Aus dem Institut für Veterinärmedizin (Robert von Ostertag-Institut)
des Bundesgesundheitsamtes (Dir.: Prof. Dr. D. Großklaus)
und dem Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und
-technologie, Fachrichtung Fleischhygiene, des Fachbereichs
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin (Prof. Dr. G. Reuter)

Versuche zur Objektivierung der Keimzahlbestimmung bei der Bakteriologischen Fleischuntersuchung (BU), zugleich eine Untersuchung zur Verbesserung der Bedingungen beim Probenversand.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Monika Etzel
geb. Kolberg
Tierärztin aus Friesack

Berlin 1973

Journal-Nr. 832

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0080

Aus dem Institut für Veterinärmedizin (Robert von Ostertag-Institut)
des Bundesgesundheitsamtes (Dir.: Prof. Dr. D. Großklaus)
und dem Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und
-technologie, Fachrichtung Fleischhygiene, des Fachbereichs
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin (Prof. Dr. G. Reuter)

Versuche zur Objektivierung der Keimzahlbestimmung bei der Bakteriologischen Fleischuntersuchung (BU), zugleich eine Untersuchung zur Verbesserung der Bedingungen beim Probenversand.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Monika Etzel
geb. Kolberg
Tierärztin aus Friesack

Berlin 1973

Journal-Nr. 832

Gedruckt mit Genehmigung des
Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Referent: Prof. Dr. G. Reuter

Korreferent: Prof. Dr. U. Götze

Tag der Promotion: 11. Juli 1973

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung

B. Schrifttum

I. Im Muskelfleisch und in Fleischerzeugnissen vorkommende Keime und ihre Bedeutung

1.) Ursachen der Kontamination des Fleisches mit Mikroorganismen und Maßnahmen zur Verhinderung der Keimkontamination

2.) Einfluß der Lagerungstemperatur auf die Keimvermehrung im Fleisch

3.) Antibiotika im Fleisch und ihr Einfluß auf die bakteriologische Untersuchung

II. Keimzählverfahren

1.) Direkte Keimzählverfahren

2.) Indirekte Keimzählverfahren

III. Methoden zum Hemmstofftest

C. Eigene Untersuchungen

I. Material

II. Methodik

1.) Semiquantitative Keimzahlbestimmungen

a) bei Muskulatur

b) beim Ösenausstrich mit Muskelpreßsaft

b_1) Gewinnung des Muskelpreßsaftes

b_2) Ösenausstrichverfahren

2.) Quantitative kulturelle Keimzahlbestimmungen in der Oberflächenkultur nach dem Spatelverfahren

a) im Muskelfleisch

b) im Muskelpreßsaft

3.) Messung des pH-Wertes im Muskelpreßsaft

4.) Durchführung des Hemmstofftests

5.) Temperaturmessungen

III. Ergebnisse

D. Diskussion der Ergebnisse

E. Schlußfolgerungen
a) zur Keimgehaltsbestimmung
b) zum Probenversand

F. Zusammenfassung

G. Literaturverzeichnis

H. Lebenslauf

A. Einleitung

Im Rahmen der Bakteriologischen Fleischuntersuchung (BU) sind nach den Vorschriften der Anlage 1 zu § 20 Abs. 3 AB.A zum Fleischbeschaugesetz (FLG) bestimmte Muskel- und Organproben von Schlachttieren zu untersuchen.

Geprüft wird sowohl auf das Vorhandensein spezifischer wie auch sogenannter unspezifischer Keime.

Die zur Bestimmung des unspezifischen Keimgehaltes in den AB.A zum FLG vorgeschriebene Methode hat sich aufgrund neuerer Erkenntnisse - insbesondere was ihre quantitative Aussagekraft angeht - als unzureichend und darum als reformbedürftig erwiesen.

Die zur Untersuchung bestimmten Proben können darüberhinaus nicht immer am Ort der Entnahme untersucht werden. In diesen Fällen werden sie versandt und sind währenddessen meist mehrere Stunden unterwegs, wobei sie während des Sommerhalbjahres oft hohen Temperaturen ausgesetzt sind. Das führt zwangsweise zu Keimanreicherungen. Der Keimgehalt in den Proben ist in solchen Fällen zumeist erheblich höher als der des in der Zwischenzeit gekühlt aufbewahrten Tierkörpers. Fehlbeurteilungen durch den Fleischbeschautierarzt können die Folge sein.

Die Aufgabe dieser Arbeit war es, eine Methode zur besseren Bestimmung des unspezifischen Keimgehaltes im Muskelfleisch zu prüfen sowie günstigere Bedingungen für den Versand der Fleischproben herauszufinden.

Da nach den Erfahrungen der letzten Jahre das Fleisch unserer Schlachttiere nicht selten Antibiotika und andere Hemmstoffe enthält, mußte mit einer Beeinflussung des Ergebnisses der bakteriologischen Untersuchungen gerechnet werden. Aus diesem Grund konnte bei den untersuchten Proben nicht auf einen Hemmstoffnachweis verzichtet werden.

B. Schrifttum

I. Im Muskelfleisch und in Fleischerzeugnissen vorkommende Keime und ihre Bedeutung

Bekanntlich ist die Haltbarkeit und hygienische Unbedenklichkeit des Fleisches wesentlich abhängig von dessen Keimgehalt. Fleisch ist so lange haltbar, bis die in oder auf dem Fleisch vorhandenen Keime sich so weit vermehrt haben, daß sie auch grobsinnlich wahrnehmbare Abweichungen in bezug auf Farbe, Konsistenz, Geruch und Geschmack des Fleisches hervorzurufen vermögen. Es bestehen also fließende Übergänge zwischen dem Zustand der Frische, der Alterung und den Stadien der Zersetzung und der Fäulnis des Fleisches. Die Oberflächenfäulnis wird durch aerobe Keime verursacht, wobei der aeroben Gesamtkeimzahl eine besondere Bedeutung zukommt.
ALTHOFF (1936) stellte dazu fest, daß die Haltbarkeitsgrenze, die mit dem Schmierigwerden der Oberfläche beginnt, bei einem Oberflächenkeimgehalt von 10 Millionen Keimen pro cm^2 liegt. Diese Haltbarkeitsgrenze wird selbst bei Kühlhauslagerung schnell überschritten. Folgende Angaben werden gemacht:

Lagerungs-Temperatur

	+ 4°C	+ 0°C
Kalbfleisch	am 4. bis 5.Tag	am 7. bis 8.Tag
Schweinefleisch	am 5. bis 6.Tag	am 7. bis 8.Tag
Rindfleisch	am 7. bis 8.Tag	am 8. bis 9.Tag

Aufgrund dieser Ergebnisse weist er auf eine unterschiedliche Lagerungsdauer der einzelnen Fleischarten hin, wobei Kalbfleisch die geringste Haltbarkeit besitzt. Hiermit steht Althoff im Gegensatz zu KLEIN und DITGENS (1966), Diese Autoren vertreten die Ansicht, daß die Tierart keinen Einfluß auf den Keimgehalt und somit auf die Haltbarkeit des Fleisches besitzt, sondern daß insbesondere die Lagerungstemperatur von entscheidender Bedeutung ist. Übereinstimmend jedoch äußern alle Autoren, daß ein niedriger Anfangskeimgehalt von großer Bedeutung für die Haltbarkeit des Fleisches ist.

Daß die einzelnen Stadien der Veränderungen mit bestimmten Keimzahlwerten korrelieren, geht auch aus der Arbeit von INGRAM und DAINTY (1971) hervor. Nach ihren Angaben treten ab 10^7 Keimen/cm^2 Geruchsabweichungen auf, ab einer Keimzahl von 10^8/cm^2 zeigt sich das erste Stadium der Schleimbildung in Form einer Klebrigkeit, ab 10^9 Keimen/cm^2 ist eine verbreitete Schleimschicht vorhanden.

Nach ELMOSSALAMI (1957), HAINES und SMITH (1933) sowie THORNTON (1968) liegt die Haltbarkeitsgrenze des Fleisches bei 30 Millionen Keimen pro cm^2. Nach Aussagen von LOESER (1935) beginnt das Schmierigwerden von Fleisch bei einer Keimzahl von 10^7 bis 10^8 pro Gramm. SOVADINA (1962) stellte eine Geruchsabweichung bei 10^6 Keimen pro cm^2 fest und eine beginnende Schleimbildung bei etwa 10^7 Keimen pro cm^2.

Diese Angaben stehen in Übereinstimmung mit dem Ergebnis einer Übersichtsarbeit von REUTER (1972). Als hauptsächliche Ursache für fäulnisartige Veränderungen in und auf Fleisch werden Bakterien der Pseudomonas-Gruppe angegeben.
Nach TAKACS (1961) ist die hygienische Beurteilung nicht allein aufgrund der Gesamtkeimzahl zu treffen, sondern auch die Art der Keimfloraanteile ist entscheidend für eine Beurteilung.
Er teilt die Keimarten in eine nützliche, z. B. Laktobazillen in gereiften Rohwürsten, und eine schädliche, z. B. Fäulnisintoxikationen hervorrufende Mikroflora, ein. Seiner Auffassung nach ist Fleisch als einwandfrei zu beurteilen, wenn die Zahl der lebenden aeroben und fakultativ anaeroben Keime nicht höher als 100.000 pro g Untersuchungsmaterial liegt. Bei einer Keimzahl zwischen 100.000 und 500.000 pro g ist das Fleisch zu beanstanden.
REUTER (1970) schlug zur quantitativen Erfassung einzelner Keimgruppen geeignete Nährböden zur selektiven mikrobiologischen Analyse vor. Er hält den Einsatz von Nährböden mit ausreichender Selektivität erforderlich für Enterobacteriaceen, Enterokokken, Mikrokokken, eigelbpositive Staphylokokken, eigelbpositive Bac. cereus-Stämme und andere Bazillen, sowie für sulfitreduzierende Clostridien, Laktobazillen und Hefen. Die quantitative Erfassung der Pseudomonas-Arten, der Streptokokken, Pediokokken, Leukonostoc-Arten und Sarcinen ist seiner Meinung nach mit Hilfe einzelner, nicht streng selektiver Nährböden oder durch vergleichende Auswertung verschiedenartiger parallel laufender Nährböden zu erreichen.

Daß in einzelnen Fällen nicht nur eine qualitative Bestimmung der Keimarten ausreichend ist, verdeutlicht auch die Arbeit von INAL (1971). Er führt den bekannten Sachverhalt an, daß der weitverbreitete Bac. cereus nach einer Aufnahme von 10^7 Keimen pro Gramm Lebensmittel Enteritiserkrankungen hervorrufen kann.

Nach SCHÖNBERG (1953) ist bei einer Anzahl von mehr als einer Million saprophytärer Bakterien pro Gramm Lebensmittel die Gefahr einer Lebensmittelvergiftung gegeben.

Darum spricht sich MOSSEL (1956) für eine Festlegung von bakteriologischen Grenzwerten hinsichtlich einer etwaigen Gesundheitsschädigung aus. Als sicheren Grenzwert für saprophytäre Keime empfiehlt er 10^4 bis 10^5 Keime pro Gramm Lebensmittel.

PÄHR (1969) fordert, daß sich der Begriff "Fleischvergifter" auch auf hämolysierende Mikrokokken, Proteus, Diplokokken (bei Kälbern), pyogene Streptokokken (bei Schweinen), bestimmte Coli-Stämme und Pseudomonas aeruginosa erstrecken sollte. Salmonella-Bakterien werden seiner Auffassung nach überbewertet.

1. Ursachen der Kontamination des Fleisches mit Mikroorganismen und Maßnahmen zur Verhinderung der Keimkontamination

Fleisch von Tieren, die ausgeruht, futterleer und hygienisch einwandfrei geschlachtet worden sind, ist in der Regel praktisch als keimfrei anzusehen. Diese bereits von Robert von ÖSTERTAG

getroffene Feststellung wurde auch späterhin immer wieder bestätigt, u.a. von BARTELS, GERIGK und FLEMMING (1964): Während die Tiefe der Muskulatur praktisch keimfrei ist, wird der Oberflächenkeimgehalt des Fleisches ausschließlich von der Schlacht- und Verarbeitungshygiene sowie der Kühlhaushygiene bestimmt.
Dieser Hinweis führt zu der Frage, wann und wie das Fleisch mit Keimen kontaminiert wird. Nach LERCHE-GOERTTLER-RIEVEL (1957) kann dies bereits intra vitam, sodann intra mortem und post mortem geschehen.
Als Hauptursache für Infektionen des Fleisches intra vitam sind Belastungen durch den Transport der Tiere und der Schlachtung vorausgehende Krankheitsprozesse im Organismus anzusehen.
Nach LERCHE-BARTELS-KELCH (1960) vermögen bei Krankheiten mit Störung des Allgemeinbefindens die im Intestinaltrakt vorhandenen Keime die Darmschranke zu durchbrechen und über das Blut- und Lymphgefäßsystem in das Fleisch einzuwandern. So wies ZIELINSKI (1966) in 30 % der Krankschlachtungen Keime in der Muskulatur nach.
LANGPAP (1962) stellte fest, daß der Keimgehalt der Proben von schwerer kranken Tieren höher lag als der von leichter erkrankten Tieren.
KAMPELMACHER (1969) wies darauf hin, daß viele gesunde Schlachttiere latent infiziert sind. Ihr Darm beherbergt u. a.

Salmonellen, Staphylokokken, Listerien, Brucellen und Leptospiren. Die Schwächung des Organismus durch die Transportbelastungen führt zum Durchbrechen der Darmschranke.

Nach SIEGMANN (1961) verfügt der Hühnerorganismus im Gegensatz zu anderen Schlachttieren über beachtliche Abwehrkräfte und Abwehrschranken gegenüber bakteriellen Invasionen. Ein Keimnachweis im Muskelfleisch gelang fast ausschließlich bei Hühnern mit chronischen Krankheitsprozessen, aber selbst bei Kadavern mit schwersten Krankheitserscheinungen war dieser Keimnachweis nur spärlich. Akute Krankheitsprozesse sind nach seinen Untersuchungen als bakteriologisch unbedenklich zu beurteilen. Er vermutet, daß es bei Hühnern offensichtlich eines Schwundes der Widerstandskraft - was erst bei längerem Siechtum der Fall ist - bedarf, um Keime in die Muskulatur einwandern zu lassen.

Eine Infektion der Schlachttiere intra mortem ist hauptsächlich beim Entblutungsvorgang möglich. Hierbei können nach BUGGE und KIESSIG (1921) die Keime von der Stichwunde aus in das Blut eindringen und über die rechte Herzkammer, den Lungen- und Körperkreislauf in die Muskulatur gelangen.

Die größte Bedeutung für den Keimgehalt des Fleisches kommt aber der post mortem-Infektion zu. Als Quelle für die Übertragung der Keime gilt die Schlachtart sowie das Tier selbst.

So fordert KRAUS (1960) besonders sorgfältig agierende Arbeitskräfte, hygienische Beschaffenheit des Arbeitsplatzes und der Gerätschaften, Vermeidung von Keimeinschleppung sowie strikte Sauberkeit und Desinfektion.

WOLFRAM (1955) stellte fest, daß die Oberfläche der mit Tüchern abgewischten Schlachtkörper mit ungefähr der sechsfachen Keimzahl besiedelt war im Vergleich zu der mit Wasser abgespülten. Es handelte sich hierbei in der Hauptsache um Kokken, mit Abstand folgten Sporenbildner, "Kolibakterien" und "Bac. pyocyaneus". Nach THEIREICH (1959) erhöht sich der Anfangskeimgehalt des Fleisches durch den Gebrauch von Wischtüchern sogar um das Zehnfache.

RIEVEL (1942) stellte bei Kontrollen in zwölf fleischverarbeitenden Betrieben als postmortale Hauptinfektionsquellen u. a. den Pansen, ferner unsaubere Fußböden, ungereinigte Maschinen und Geräte fest.

HESS (1970) untersuchte den Keimgehalt der Hände und Unterarme des Schlachtpersonals. Dabei stellte sich heraus, daß die Keimzahl auf der Oberfläche der Hände und Unterarme eines Metzgers beim Klauenabsetzen und Abhäuten eines Schlachttieres bis auf 200 Millionen/ cm^2 ansteigen kann. Durch die sorgfältige Reinigung von Händen und Werkzeugen kann der Keimgehalt des erschlachteten Fleisches um das Zehnfache reduziert werden.

So beschreibt ZIMMER (1953) drei Fälle einer Übertragung von Salmonellen auf zunächst Salmonella-freie Schlachttiere durch Benutzung infizierter Messer und Schlachtgeräte.

LUDWIG (1964) prüfte den Oberflächenkeimgehalt frischgeschlachteter Tiere 1.) sofort nach dem Schlachten in der Schlachthalle, 2.) nach dem Transport in die Vorkühlhalle und nach dortigem achtstündigem Aufenthalt 3.) nach 24-stündigem Aufenthalt in der Vorkühlhalle. Der höchste Prozentsatz an gramnegativen

Stäbchen sowie vor allem an Fluoreszenten fand sich in der Vorkühlhalle. Sofort nach der Schlachtung war der Gehalt gering, nach acht Stunden Vorkühlraum etwas höher, nach 24 Stunden Vorkühlraum war ein starker Anstieg zu bemerken. Daß eine starke Verkeimung des Fleisches mit psychrotoleranten Bakterien erst in der Vorkühlhalle stattfindet, schließt er daraus, daß er im Kühlhaus, an den Wänden, auf dem Boden und auf den Haken selbst sehr viele gramnegative fluoreszierende Stäbchen fand.
WALZ (1953) untersuchte die Haut von Schlachtschweinen kurz nach der Schlachtung. Dabei fand er vor dem Brühen einen hohen Anteil an Mikrokokken, daneben gramnegative Stäbchen und Streptokokken sowie unterschiedlichen Gehalt an Bazillen der Mesentericus-Subtilis-Gruppe. Nach dem Brühen hatte eine starke anteilige Anreicherung mit aeroben Sporenbildnern stattgefunden. Der Keimgehalt der Haut war schließlich beim Abtransport in die Vorkühlhalle größer als vor dem Brühen. Als größte Gefahrenquelle für die Verkeimung der Haut mit sporenbildenden Aerobiern und obligaten Anaerobiern ist demnach das Brühwasser anzusehen. Zur Vermeidung dieser Verunreinigung schlägt er Enthaarungsduschen mit Dampfzuleitungen vor.
Als Quelle zahlreicher Lebensmittelvergifter-Keime bezeichnet HESS (1971) den Darm von Mensch und Tier. Darum besteht als oberstes Gebot der Nahrungsmittelhygiene die sorgfältige Vermeidung jedes direkten oder indirekten Kontaktes mit Darminhalt. Bei "gesunden" Dauerausscheidern unter Schlachttieren fand er bis zu 10^9 Salmonellen pro Gramm Kot.

Die Einschleppung der größten Keimmengen erfolgt demnach durch die Schlachttiere selbst, durch ihren Darminhalt, durch Fell- und Klauenschmutz.

HESS fand im Durchschnitt von je 100 Schlachttieren an Enterobacteriaceen pro Gramm Kot: $1,5 \times 10^8$, an Proteolyten pro Gramm Klauenschmutz: ca. $1,2 \times 10^8$ und an Proteolyten pro Gramm Haarballen: ca. 1×10^8. Obwohl sich die direkte und indirekte Berührung des Fleisches beim Schlachtprozess nicht völlig vermeiden läßt, können trotzdem durch hygienische Maßnahmen Schmierkontaminationen weitgehend vermieden werden.

SOMMER (1958) fand beim Schwein auf der Oberfläche des M. gracilis, auf der Haut des Schinkens und auf der Haut der Schulter Mikro-, Diplo-, Strepto- und Staphylokokken, daneben eine hohe Zahl von grampositiven Kurzstäbchen. In einigen wenigen Fällen waren zusätzlich gramnegative Langstäbchen, Pilze und Hefen vorhanden.

Nach ELMOSSALAMI (1957) sind beim Rind Halsunterseite, Schenkelinnen- und -außenseite, Brustinnen- und -außenseite, Oberschenkel- und Kopffleisch am stärksten bakteriell verunreinigt.

2. Einfluß der Lagerungstemperatur auf die Keimvermehrung im Fleisch

Bekanntlich beruhen die konservierenden Eigenschaften der Kälte darauf, daß alle biologischen und chemischen Reaktionen mit fallender Temperatur langsamer ablaufen. Als untere Temperatur-

grenze für die Vermehrung von Bakterien gelten - 5 bis - 8°C, für Hefen liegen diese Grenzen bei - 10 bis - 12°C, für Schimmelpilze bei - 12 bis - 18°C und für lebensmittelvergiftende Bakterien bei + 3°C (HERRMANN, 1970).

Untersuchungen von HALLECK, BALL und STIER (1958) ergaben, daß in vorverpacktem Frischfleisch, das über 1 Monat bei + 4°C bis + 6°C gelagert wurde, das Wachstum der Mikroorganismen doppelt so schnell war wie bei der Lagerung des Fleisches bei + 1°C bis + 3°C.

So wiesen auch KARAN-DJURDIJC, TADIĆ, Z. und TADIĆ, R. (1962) durch eine in-vitro-Versuchsreihe die Abhängigkeit der Bakterienzahl von der Temperatur nach. Sie stellten bei + 12°C eine gute Vermehrung von Ps. aeruginosa, M. aurantiacus und Str. faecalis und bei Bac. licheniformis eine spärlichere Vermehrung fest. Bei einer Temperatur von - 6°C erfolgte erst nach 150 Std. eine Vermehrung von Ps. aeruginosa, M. aurantiacus und Str. faecalis. Eine Vermehrung von Bac. licheniformis war nicht feststellbar. Bei einer Temperatur von 0°C nahm die Keimzahl o. g. Arten kaum zu. Außerdem fanden die Verfasser heraus, daß Minustemperaturen selektiv wirken. Stäbchenförmige Keime werden am stärksten gehemmt, Mikrokokken stärker beeinflußt als Streptokokken. - Bei der Prüfung des Bakterienwachstums bei - 5, -15 und - 30°C zeigte sich, daß die Reduktion der Bakterienzahl umso stärker war, je mehr sich die Temperaturen der ± 0°C-Grenze näherten. Nach der Zugabe von Fleischsaft reduzierte sich die Bakterienzahl unter gleichen Temperaturbedingungen nicht so stark.

Ebenso waren in Talgemulsion suspendierte Stämme von M. aurantiacus, Str. faecalis und Ps. aeruginosa bis zu einem gewissen Grade vor den negativen Einflüssen der niedrigen Temperaturen geschützt; dagegen wurde das Wachstum von Bac.licheniformis auch dadurch nicht gefördert.
Wiederholtes Gefrieren und Auftauen erhöht die ungünstige Wirkung der tiefen Temperaturen auf die untersuchten Keime.
ELMOSSALAMI (1957) fand bei Temperaturen von 0 bis + 4°C hauptsächlich Achromobacter-Arten, bei tieferen Temperaturen Schimmelpilze und Hefen, die aber bei - 7 bis - 10°C abstarben.
Nach ELLIOT und MICHENER (1962) können sich Bakterien, die Lebensmittelvergiftungen hervorrufen, in vorschriftsmäßig gekühlten Lebensmitteln nicht vermehren. Die unterste Grenze für die Vermehrung der Clostridien lag bei + 10°C, nur Cl. botulinum Typ E wuchs noch bei + 3,3°C.
Salmonellen und Staphylokokken wuchsen noch bei + 6,7°C.
Nach SCHÖNBERG (1939) sind bei der Kühlung des Fleisches folgende Bakterien zu beachten: Fluoreszenten, Flavobakterien, Achromobacter-Arten, "Bac. vulgatus" und Mikrokokken-Arten, außerdem Hefen und Schimmelpilze. Achromobacter-Arten haben ihr Temperatur-Optimum bei + 15 bis 20°C. Pseudomonas-Arten zeigen bei ± 0°C zwar geringes Wachstum, nach etwa zehn Tagen jedoch - nach Gewöhnung an diese Temperatur - eine ansteigende Vermehrungsrate. Selbst bei - 4°C ist Pseudomonas fluoreszens liquefaciens noch in der Lage, sich zu vermehren und Eiweiß zu zersetzen, allerdings erst nach einer Gewöhnungszeit von

20 bis 30 Tagen. Ein langsames Absinken der Temperatur wurde besser vertragen als zu schnelles Abkühlen. -
Als günstigste Kühlraumbedingungen fordert SCHÖNBERG eine Temperatur von 0 bis - 0,5°C, eine relative Luftfeuchte von 80 bis 85 % sowie eine ausreichende Luftumwälzung und Lufterneuerung.
Auch SCHMID (1931) stellte fest, daß für eine möglichst geringe Keimvermehrung die Temperatur und die relative Luftfeuchtigkeit in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen müssen. Er fand bei ± 0°C und einer relativen Feuchte von 95 % etwa das gleiche Keimwachstum wie bei + 4°C und einer relativen Feuchte von 75 %. Bei Senkung der Temperatur um 1°C kann im allgemeinen bei gleicher Lagerdauer die relative Feuchte um rund 5 % heraufgesetzt werden. - Je höher Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit ansteigen, desto geringer ist die Haltbarkeit des Fleisches.
THEIREICH (1959) empfiehlt eine Lagerung des Fleisches möglichst bei - 1°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit unter 90 %.
ALTHOFF (1936) stellte bei einer Temperatur von ± 0°C und der relativen Feuchte von 90 % eine erheblich bessere Haltbarkeit fest als bei + 4°C und einer relativen Feuchte von 70 - 80 %.
DEMINA, BALANDRINA und MITSCHUKOWA (1968) berichten von einer nur unwesentlichen Erhöhung der Keimzahlen bei einer Schnellabkühlung des Fleisches innerhalb von 20 Stunden auf - 0,5 bis + 1°C. So abgekühltes Fleisch ist nach einer Transportdauer von 2 Tagen bei 90 % relativer Feuchte und ± 0 bis + 1°C noch bis zu sieben Tage lagerfähig, wenn die Keimzahl zu Beginn der

Lagerung nicht mehr als 10^5 Keime pro cm^2 beträgt.

RIECHERT (1940) hob für die Wachstums- und Vermehrungsmöglichkeiten von Salmonellabakterien auf der Fleischoberfläche besonders einen gleichbleibenden Feuchtigkeitsgehalt des Fleisches hervor; wichtig sind auch die feuchte Beschaffenheit der Fleischschnittfläche, hohe Umgebungstemperatur, ein relativer Luftfeuchtigkeitsgehalt von etwa 90 % im Aufbewahrungsraum sowie ein hoher Blutgehalt des Fleisches für den Grad der Keimvermehrung. Daß die auf der Oberfläche vorhandenen Salmonellen aktiv in das Fleischinnere einzudringen vermögen, bewiesen u.a. THEILE (1970) und LOTFI (1971). Nach THEILE ist die Ausbreitung der Salmonellen im Muskelgewebe abhängig von der Struktur des Gewebes (locker, feucht, fest, trocken) und von der Temperatur. Die relativ geringe mittlere Ausbreitung von 4,3 cm war innerhalb von vier Tagen bei einer Temperatur von + 2°C festzustellen. Bei Zimmertemperatur hingegen konnten die Keime schon nach 24 Std. aus einer Tiefe von 11 cm isoliert werden. Die Ausbreitung im Lebergewebe erfolgt doppelt so schnell. Auch bei sachgemäßer Kühlung kann eine Leber innerhalb von drei Tagen vollständig von Salmonellen durchsetzt sein. LOTFI untersuchte die Fähigkeit und die Schnelligkeit des Eindringens von S. typhimurium und Proteus vulgaris in unversehrtes Fleisch bei unterschiedlichen Temperatureinflüssen. Aus diesen Untersuchungen ging hervor, daß S. typhimurium bei + 24°C und 70 % relativer Feuchte innerhalb von 36 Std. imstande ist, unversehrtes Fleisch bis zu einer Tiefe von 15 cm zu durchdringen. Proteus

vulgaris erreichte diese Tiefe innerhalb von 24 Stunden. Bei + 4°C und 92 % relativer Feuchte konnten beide Keimarten lediglich bis zu einer Tiefe von 3 cm eindringen. Bei - 10°C und 98 % relativer Feuchte konnten beide Keimarten nur eine Tiefe von 1 cm unterhalb der Oberfläche erreichen.

Um bakterielle Verderbnis und damit einen Qualitätsverlust von Schweinefleisch während des Transports zu verhindern, schlägt SINELL (1963) das sogenannte "Kälteschock-Verfahren" vor. Hierbei wird das Fleisch einer Temperatur von - 25°C und einer 300-fachen stündlichen Luftumwälzung ausgesetzt. Dabei erreicht man im Kern der Muskulatur binnen 2 1/2 Std. eine Temperatur von ± 0 bis 1°C, wodurch das bakterielle Wachstum auf der Fleischoberfläche völlig gehemmt wird. Bei einer Kühlung während des darauffolgenden Transportes mit entsprechenden Mengen Trockeneis (40 - 50 kg Trockeneis für 600 km) steigt die Fleischtemperatur während der Transportdauer von 10 - 12 Std. nicht über + 3°C.

HESS und MARTHALER (1962) gingen der Frage nach, wie lange abgepacktes Fleisch bei einer Temperatur von 0 bis + 2°C feilgeboten werden darf. Das Kriterium hierbei war die Dauer der bakteriostatischen Phase, die bei Schweinefleisch mit 48 Std. am kürzesten, bei Kalbfleisch mit durchschnittlich 72 Std. am längsten war. Durch eine konstante Lagerhaltung bei - 2 bis 0°C gelang es, den Übergang zur exponentiellen Keimvermehrung bei Schweinefleisch und Rindfleisch bis zu 72 Std.

hinauszuschieben. Hieraus geht hervor, daß eine Innehaltung möglichst tiefer und konstanter Kühltemperaturen von wesentlicher Bedeutung ist. HESS und MARTHALER halten eine konstante Lagertemperatur von - 1°C für wünschenswert.

SOVADINA (1962) berichtet, daß bei portioniertem Fleisch durch Reduzierung des Oberflächenkeimgehaltes von 10^4 auf 10^2 Keime pro cm^2 die Haltbarkeit verlängert werden konnte, und zwar bei + 4°C um 4 - 6 Tage und bei + 2°C um 6 - 1o Tage.

In den USA bestehen bezüglich der Lagertemperaturen von Frischfleisch (1968) folgende Bestimmungen:

1. Der Tierkörper muß im Lagerraum bei - 1°C gehalten werden.
2. Im Verarbeitungsraum darf die Temperatur nicht über + 5°C ansteigen.
3. Im Lagerraum muß für das zerlegte Fleisch eine Temperatur von - 1 bis - 2°C gehalten werden.
4. Beim Transport des Fleisches muß im Fahrzeug eine Temperatur von - 1°C gehalten werden.
5. Im Ladenkühlraum muß eine Temperatur von ± 0°C gehalten werden.
6. Die Temperatur im Ladenschau-Kühlmöbel soll - 2° C und darf höchstens ± 0°C betragen.

Unter Einhaltung dieser Temperaturen ist es gelungen, abgepacktes Frischfleisch bei guter Farbhaltung bis zu 14 Tagen aufzubewahren.

3. Antibiotika im Fleisch und ihr Einfluß auf die bakteriologische Untersuchung

Aufgrund der Hemmwirkung der Antibiotika auf das Wachstum der Bakterien äußerte PSOTA (1965) die Ansicht, daß negative BU-Ergebnisse auf der Gegenwart von antibiotischen Hemmstoffen beruhen und forderte Zusatzuntersuchungen. LOCHMANN (1955) hielt früher schon den Einfluß einer Penicillintherapie auf die Ergebnisse der BU für möglich und forderte eine genaue Anamnese über die stattgehabte Therapie seitens des Einsenders der Fleisch- und Organproben. CLARENBURG und KAMPELMACHER (1957) wiesen nach, daß durch den therapeutischen Gebrauch von Antibiotika die Überlebensfähigkeit der Bakterien im Fleisch herabgesetzt und damit die bakteriologische Diagnose erschwert wird. Sie beschreiben das verzögerte Bakterienwachstum von Bac. anthracis und S. dublin, nachdem die Schlachttiere nachweislich während des Lebens mit Antibiotika behandelt worden waren. Im Fall einer an Milzbrand erkrankten Kuh fand man weder im Blut noch in den Ausstrichpräparaten der Milz Milzbrandbazillen. In Bouillon und Fleischbrüheagar war nach 20- und 48-stündiger Bebrütung bei 37°C makroskopisch kein Wachstum feststellbar. Nach Überimpfung aus diesen Nährmedien auf Platten war nach 20-stündiger Bebrütung das Wachstum typischer, aber nur vereinzelter Milzbrandkolonien zu beobachten. - Infizierte Mäuse starben erst nach 2 bis 5 Tagen anstatt nach 24 Stunden.

Auch bei Kälbern, die unter dem Verdacht auf Salmonellose geschlachtet worden waren, war in der bakteriologischen Untersuchung weder auf den Selektivplatten noch auf Schrägagar nach 18 Stunden bei + 37°C Wachstum festzustellen. Nur aus beimpfter Bouillon konnte in zwölf von 22 Fällen nach 18 Std. bei + 37°C S. dublin isoliert werden. In drei Fällen gelangten auf Selektivplatten einige S. dublin-Kulturen erst nach 48 Std. und z. T. nach 96 Stunden zur Entwicklung. Diesen Kälbern war intra vitam Aureomycin verabreicht worden.

v.SPROCKHOFF (1960) stellte fest, daß schon geringe Mengen von Terramycin Wachstumsverzögerungen bei Rotlaufbakterien hervorrufen. KALICH und MERKENSCHLAGER (1958) fanden in Modellversuchen mit Salmonella-infizierten Mäusen heraus, daß sowohl bei einfacher und dreifacher Antibiotika-Fütterungsdosis als auch bei der Verabreichung therapeutischer Dosen Wachstumsverzögerungen bei der Isolierung aus Muskulatur und Organen auftreten können. Am häufigsten war dies bei therapeutischen Dosen der Fall. KÖSER u.v.SPROCKHOFF (1960) kamen in ihren Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß Fütterungsdosen beim Kalb keinen Einfluß auf die Nachweisbarkeit von Salmonellen im Fleisch haben. Therapeutische Dosen jedoch hemmten oder unterdrückten das Wachstum nachhaltig.

MEYN, KALICH und MERKENSCHLAGER (1960) stellten in Versuchsreihen mit 18 künstlich Salmonella-infizierten Kälbern fest, daß das Ergebnis der BU nicht nachteilig beeinflußt wird, wenn das Futter mit üblichem Aureomycin-Gehalt und der üblichen

Dosis von 80 mg/Tier und Tag verabreicht wird. Dagegen können therapeutische Aureomycin-Dosen eine Verzögerung bzw. eine Unterdrückung des Bakterienwachstums in der bakteriologischen Untersuchung bewirken. Um die Maskierung des tatsächlichen Keimstatus bei bakteriologischen Untersuchungen und somit gefährliche Fehlbeurteilungen zu vermeiden, dürfen nach JEPSEN und PEDDERSEN (1965) die Tiere frühestens 6 Tage nach einer Antibiotika- oder Sulfonamidtherapie geschlachtet werden. So erwähnt auch LORENZEN (1967) im Zusammenhang mit drei Jahre lang durchgeführten Untersuchungen, daß die Mehrzahl der positiven Tests aus einer Antibiotika-Behandlung innerhalb der letzten 24 Std. vor der Schlachtung resultiert. Erheblich weniger positive Tests lagen vor, wenn diese Behandlung 2 oder 3 Tage vor der Schlachtung durchgeführt wurde.

Häufigkeit des positiven Hemmstofftests: LORENZEN führte im Zeitraum von1963 bis 1966 mit sämtlichen eingesandten BU-Proben zusätzlich einen Hemmstofftest durch. Dabei waren 1,2 % der untersuchten Einhufer, 1, 4 % der untersuchten Rinder und 1,2 % der untersuchten Schweine hemmstoffpositiv. Bei der Überprüfung von Leber, Niere, Milz und Muskulatur erbrachte die Niere die meisten positiven Ergebnisse. Bei 42 Tieren mit positivem Nierenbefund waren lediglich die Leber 7 x, die Milz 4 x und die Muskulatur 1 x positiv. Die Ausdehnung der Hemmzonen dieser Organe war in allen Fällen geringer.

BONFERT und BERRANG (1969) untersuchten von 4.857 Tieren Niere, Leber, Gallenblase und Muskulatur auf Hemmstoffe. Davon fielen insgesamt 284 Proben = 5,8 % positiv aus. Nach ihren Erfahrungen ist der Hemmstoffnachweis aus der Niere am sichersten.

KLIMA (1966) führte Kontrollen bei BU-Proben in Gießen durch. Er untersuchte 11.546 Proben, davon waren 103 = 0,89% positiv. Bei den Hemmstoff-positiven Tieren handelte es sich um 60 Schweine, 15 Rinder, 20 Kälber und 8 Schafe. Hierbei reagierte in positiven Fällen die Niere zu 100 %, die Leber zu 42,9 %, die Milz zu 0,48 % und die Muskulatur überhaupt nicht.

FORSCHNER (1962) testete 6.584 Proben anläßlich von Not- und Krankschlachtungen. Davon waren 388 = 5,9 % positiv. Pferde waren zu 16,2 % aller Einsendungen positiv, Rinder zu 4,23 %, Schweine zu 4,9 % und Kälber zu 10 %. Von den positiven Nieren-Proben wurden Nachproben mit Leber, Muskulatur und Milz durchgeführt. Hierbei reagierten 69 % der Lebern, 32 % Muskulatur-Proben und 19,3 % der Milzproben positiv. Durch längere Lagerzeiten ergab sich keine Änderung der Ergebnisse. Bei hemmstoffpositiven Tieren waren stark keimhaltige Organe seltener als bei negativen.

KIND (1966) fand bei der Untersuchung von 500 not- bzw. krankgeschlachteten Tieren 16 positive Fälle, das sind 3,2 %.

KOTTER (1960) fand durch Einschaltung des biologischen Hemmstofftestes in die BU 76 positive Proben unter 500 Einsendungen.

SAWATZKI (1971) untersuchte anläßlich der BU 2.000 Nieren- und Muskelproben. Hierbei waren 13,65 % der Tiere hemmstoffpositiv,

wobei es zu folgender tierartlich unterschiedlichen Einteilung kam: bei Kälbern waren 27 %, bei Rindern 13 % und bei Schweinen 11,4 % positiv.

Um einen Überblick über die Rückstandssituation in Rheinland-Pfalz zu bekommen, untersuchte KLEIN (1972) im Jahre 1971 Gewebsproben von 485 tauglich beurteilten Schlachttieren. Er fand Hemmstoffrückstände in 2,4 % der Proben von Rindern, in 12,1 % der Proben von Schweinen und in 54,4 % der Proben vom Kalb. Von 42 positiven Kälbern wurden Niere, Leber, Muskulatur untersucht. In 23,7 % dieser Testgruppe waren bei allen drei Gewebsarten eindeutige Hemmzonen zu erkennen.

BARTELS (1970) untersuchte Gewebsproben von normal geschlachteten Tieren. Hier wies er in 12,7 % der Proben Hemmstoffe nach. Außerdem stellte er eine Verzögerung des Keimwachstums fest. In 30 % der normal geschlachteten Kälber ließen sich ebenfalls Hemmstoffe nachweisen.

GISSKE et al. (1970) untersuchten normal geschlachtete, tauglich beurteilte Schlachttiere. Davon waren 2,3 % der untersuchten Schweine, 5,5 % der untersuchten Rinder und 67,3 % der untersuchten Kälber hemmstoffpositiv. Im Falle der Kälber handelte es sich hauptsächlich um Tetracycline.

II. Keimzählverfahren

1. Direkte Keimzählverfahren

Bei den direkten Keimzählverfahren wird die Anzahl der Keime mit Hilfe der Bakterioskopie ermittelt. Die hierbei gefundene Keimzahl stellt eine Summe aus lebenden und toten Keimen dar. Ein bekanntes und vielfach modifiziertes direktes Keimzählverfahren ist die BREED-Zählung, die von SCHÖNHERR (1956) für Milch beschrieben wird: 0,01 ml Milch werden genau abgemessen und auf einer Objektträgerfläche von 1 cm^2 gleichmäßig verteilt. Die Keimzahl wird durch Auszählen mehrerer Gesichtsfelder bestimmt. Die ermittelte Keimzahl wird mit einem Faktor multipliziert, der die Optik des Mikroskops, den Verdünnungsgrad der Milch und die ausgestrichene Milchmenge berücksichtigt.
Die Keimzählung nach SKAR stellt ein ähnliches Verfahren dar.
Zur Unterstützung des kulturellen Befundes bei Gemüse- und Fleischkonserven entwickelten MOSSEL und ZWART (1959) eine auf dem gleichen Prinzip beruhende Technik: 10 g Probenmaterial werden mit 5 g Seesand und 30 ml Leitungswasser zerrieben. Die Mischung läßt man anschließend im Reagierröhrchen etwa 5 Minuten lang sedimentieren. Aus der klaren Oberschicht werden 0,01 ml entnommen, auf 1 cm^2 eines Objektträgers verbracht, nach Gram gefärbt und ausgezählt.
PANZER (1950) beschreibt ein Verfahren zur Keimbestimmung in Teigwaren unter Zuhilfenahme von Blutzählkammern nach Thoma-Zeiß.

Hierbei wird 1 g der Probe zermörsert und gefärbt. Bei 500 bis 600-facher Vergrößerung werden die Keime in einer Thoma-Zeiß-Kammer ausgezählt.

DIETZE (1964) verglich in Untersuchungen mit Rohwurst das Kammerzählverfahren mit einer modifizierten BREED-Zählung und stellte fest, daß beide annähernd die gleichen Ergebnisse lieferten. Allerdings ist zur Unterscheidung der Bakterien von anderen Partikeln eine gewisse Übung notwendig.

KELCH und HADLOK (1960) kamen durch Keimzahlbestimmungen an Fleischkonserven zu dem Ergebnis, daß aus dem bakterioskopisch ermittelten Befund keine Rückschlüsse auf die kulturell ermittelten Keimzahlen gezogen werden können. Aus dem bakterioskopischen Befund kann allerdings auf die hygienische Beschaffenheit sowie auf die voraussichtliche Haltbarkeit der Ware geschlossen werden. Damit kommt dem bakterioskopischen Befund für die bakteriologische Beurteilung von Fleisch- und Fischkonserven lediglich orientierende Bedeutung zu (KELCH, 1960). LORENZEN und GEMMER (1961) weisen darauf hin, daß sich bei der bakterioskopischen Untersuchung von Abdruckpräparaten über die Bakterienart nur unsichere Angaben machen lassen und daß diese Untersuchung keinen Aufschluß über die Anzahl lebender Keime gibt. Gerade für die Beurteilung von Fleischkonserven ist der Hauptwert aber auf den Nachweis von lebenden Keimen in kulturellen Züchtungsverfahren zu legen.

2. Indirekte Keimzählverfahren

Mit den indirekten Keimzählverfahren werden die in der Probe zur Zeit der Untersuchung lebenden Keime erfaßt. Häufig wird dabei das Kultur-Plattenverfahren verwendet. Diese Methodik geht davon aus, daß jeder lebende Keim des Untersuchungsmaterials zu einer Kolonie heranwächst, nachdem er mit einem festen Nährboden vermischt oder auf einem Nährboden ausgespatelt wurde. Zur Auszählung der Keime werden Verdünnungen hergestellt. Aus dem Verdünnungsfaktor kann die Anzahl der Keime pro g Untersuchungsmaterial errechnet werden. Die große Anzahl der erforderlichen Arbeitsgänge beinhaltet zwangsläufig viele Fehlerquellen. Mit diesem Problem beschäftigte sich u. a. LAGONI (1954). Er bewies, daß auch durch sorgfältigstes Arbeiten nach gleicher Technik niemals völlig gleiche Ergebnisse erzielt werden. Selbst bei erfahrenen und mit größter Genauigkeit arbeitenden technischen Hilfskräften war eine individuelle Schwankung von $\pm$ 3 % nicht zu vermeiden, doch ist bei diesen Arbeitskräften die individuelle Fehlerbreite relativ konstant. Bei sorgfältiger Handhabung eines genau normierten Plattenverfahrens ist also noch mit einer Schwankung von $\pm$ 3 % zu rechnen.

Andere Fehlerquellen liegen in der ungleichen Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials, in dem unterschiedlichen Zerkleinerungsgrad, in nicht gleichartigen Verdünnungslösungen, in nicht gleichartiger Herstellung des Agars, in unvollständiger

Sterilisierung der Nährmedien, Verdünnungsmedien und Gerätschaften, z. T. auch in Luftinfektionen.

Zum Zerkleinern von Fleisch und Fleischwaren hält FLEISCHMANN (1957) Mühlen für ungeeignet, da bei fettreichem Material die Scheiben zu rasch verkleben. Ein Zermörsern ist nur dann zu empfehlen, wenn das Untersuchungsgut schon in kleiner Teilchengröße vorliegt. Mit einem Fleischwolf mit kleiner Lochscheibe und nach mehrmaligem Durchdrehen kann seiner Meinung nach eine weitgehende Homogenisierung des Materials erreicht werden. Als günstig erweist sich in diesem Fall noch zusätzliches Mörsern. Eine vollkommene Homogenisierung erreichte er jedoch erst mit Hilfe von Homogenisatoren vom Typ "Starmix".

Auch BARRAUD et al. (1967) halten die Mörsermethode für unzureichend und empfehlen elektromechanische Zerkleinerungsgeräte, die mit einer Mindestgeschwindigkeit von 6 000 U/min arbeiten sollten. Die Verfasser gingen so vor, daß sie die Gesamtprobe vor Entnahme der Untersuchungsprobe im Fleischwolf zerkleinerten. Das entnommene Untersuchungsmaterial wurde mit Kochsalz-Pepton-Lösung homogenisiert. Von dem Homogenisat wurden 0,1 ml auf Standard-Plate-Count-Agar ausgespatelt und 3 Tage bei 30°C bebrütet. Die Verfasser erhielten bei dem Oberflächenverfahren höhere Werte als beim Gußverfahren.

CORETTI (1957) hält das Plattenzählverfahren für die technisch einfachste und zuverlässigste Methode. Im Hinblick auf die unterschiedliche Keimverteilung im Untersuchungsmaterial

hält er es für zweckmäßig, 5 - 10 g des Materials zu entnehmen. Bei einer Umdrehungszahl des Homogenisators von 20.000 pro Minute für 3 Minuten erhielt CORETTI nur eine unwesentliche Änderung der Keimzahl, während bei einer Tourenzahl von 40.000 U/min für 3 Minuten eine Erhöhung festzustellen war. Auch CSABA (1959) fordert Genauigkeit und Sorgfalt bei der Herstellung von Verdünnungslösungen; er erwähnt, daß eine genügende Homogenisierung und eine genaue Verdünnung des Materials bei kompakten Lebensmitteln schwieriger durchzuführen ist als bei breiigen oder gar flüssigen. Als mögliche Fehlergröße bei flüssigen, breiigen und pulverartigen Materialien gibt CSABA $\pm$ 20 bis 30 % an, bei kompakten liegt sie zwischen $\pm$ 30 und 60 %. Trotzdem ist er der Meinung, daß dieser große mögliche Fehler die Brauchbarkeit des Plattenverfahrens nicht einschränkt. Er hält es für das beste zur Bestimmung der mikrobiologischen Qualität der Lebensmittel, weil die Genauigkeit der Methode innerhalb einer gewissen Grenze bewiesen ist. SCHMIDT-LORENZ (1960) empfiehlt zur Keimzahlbestimmung in vorbehandelten Lebensmitteln, bei denen mit einer Schädigung der Bakterienflora zu rechnen ist, eine optimale Verdünnungslösung aus 0,85 % NaCl + 0,1 % Pepton, die eine gute protektive Wirkung gegenüber den Bakterien haben soll.
LEISTNER (1956) hält eine Bebrütungstemperatur von 30°C für eine Dauer von 72 Stunden für die Mischflora des kühl gelagerten Fleisches für günstig. Nach seinen Erfahrungen werden dabei die höchsten Keimzahlen erzielt.

Um durch Anwendung eines geeigneten Nährbodens die Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungsergebnisse zu erhöhen, schlagen SINELL, REUTER und UNTERMANN (1965) als Standard-Medium für die aerobe Gesamtkeimzahlbestimmung in Fleisch und Fleischprodukten folgenden Nährboden vor:

Trypton	15,0 g
Glukose	1,0 g
Hefeextrakt	5,0 g
Fleischextrakt	3,0 g
Agar	15,0 g

Neben dem Plattenverfahren ist zur Keimzahlbestimmung ebenfalls die Membranfiltermethode gebräuchlich. CORETTI (1957) verglich beide Methoden miteinander und stellte in 68,8 % der Fälle völlige Übereinstimmung der Ergebnisse fest. In 16,7 % der Fälle wichen die Zahlen gering bis mittelgradig ab, und nur bei 4,4 % wurden starke Abweichungen festgestellt.
Eine weitere indirekte Keimzählmethode beschreiben NAUMANN und WERBS (1970). Es handelt sich hierbei um den Einsatz von agarbeschichteten Objektträgern zur bakteriologischen Urindiagnostik. Dazu werden 2,5 bis 3,0 ml des 50 bis 60°C heißen Agars auf den entfetteten, heißluftsterilisierten Objektträger gegeben. Nach Erstarren sticht man 15 mm ab, um Platz zum Beschriften zu erhalten. Dann wird der Objektträger in die jeweilige Verdünnung getaucht. Im Vergleich zur Spatelmethode ergab sich, daß auf dem Objektträger etwa 0,02 ml Testflüssigkeit, in diesem Falle 1 : 10 verdünnter Urin, haften bleiben. 200 Kolonien auf dem Objektträger entsprechen somit einer Keimzahl von 10^5 Keimen/ml.

III. Methoden zum Hemmstofftest

Um Fleisch und Fleischwaren auf die Anwesenheit von Antibiotika zu prüfen, bedient man sich chemischer und biologischer Methoden. Da für den Routinebetrieb die chemischen Methoden zu kompliziert und aufwendig sind, benutzt man hierbei biologische Methoden, die mikrobiologisch aktive Rückstände erfassen. Dabei werden die zu untersuchenden Materialien mit Testkeimen zusammengebracht. In positiven Fällen tritt bei den Testkeimen eine Wachstumshemmung auf, die auf verschiedene Weise sichtbar gemacht werden kann.

Von KOTTER, TERPLAN und SCHULZ (1959) wurde eine von NEAL und CALBERT (1955) beschriebene Technik zum Nachweis von TTC (=Triphenyltetrazoliumchlorid)-reduzierenden Bakterien in Milch für den Nachweis von Hemmstoffen eingesetzt. Sie wählten als Testkeim den Micrococcus pyogenes var. aureus ATCC 6538-P, als Testorgan die Niere. Zur Durchführung dieser Methode wird ein Teil der fein zerkleinerten Niere mit zwei Teilen einer 1 %igen Dextrosebouillon oder einer Flüssigkeit aufgeschwemmt, die 1 % Pepton, 1 % Dextrose und 0,5 % Kochsalz enthält. Dann wird kurz und kräftig durchgemischt. Eine darauffolgende mindestens fünfminütige Erhitzung bei 80°C ist angezeigt, um die Eigenhemmung des Organs und auch eventuell vorhandene Bakterien auszuschalten. Nach der Klärung durch Filtrieren oder Zentrifugieren wird die eine Hälfte des Extraktes auf pH 6, die andere auf pH 8 eingestellt. Zwei Röhrchen von pH 6 und ein Röhrchen von pH 8 mit

jeweils 10 ml werden mit je 0,5 ml einer möglichst 16 - 18 Stunden alten Kultur des Teststammes versetzt. Nach gutem Durchmischen und dreistündigem Bebrüten bei 37°C werden zu zwei Röhrchen mit unterschiedlichem pH 0,3 ml einer 4 %igen TTC-Lösung gegeben. Das dritte Röhrchen dient als Blindprobe zur Feststellung der Eigenfarbe des Extraktes. Nach weiteren 30 Minuten Bebrütung kann die Reaktion abgelesen werden: Hemmstoff-freie Extrakte verfärben sich intensiv rot. Bei Anwesenheit von Hemmstoffen verfärbt sich der Ansatz nur schwach oder überhaupt nicht. Bei totaler Hemmung besteht farbliche Übereinstimmung mit der Blindprobe.

Nach Aussagen der Verfasser ist ein nach diesen Angaben durchgeführter Test sehr gut geeignet, um therapeutische Antibiotikadosierungen zu ermitteln.

BONFERT und BERRANG (1969) beschreiben als Direktmethode den Agar-Platten-Diffusionstest nach der Gefrierblockmethode (GARTSIDE, 1960). Hierfür wird ein etwa erbsengroßes Materialstück in der Tiefkühltruhe bei 20°C gefroren und in gefrorenem Zustand auf die mit der Testkultur beimpfte Agar-Platte verbracht. Nach zwei- bis dreistündiger Aufbewahrung der Platten bei Zimmertemperatur werden diese dann 15 bis 18 Stunden bei 37°C bebrütet.

LORENZEN (1967) benutzte für den Hemmstoffnachweis Nierenstückchen, die ohne Vorbehandlung auf Agarplatten verbracht wurden, die

mit einem Bac.-subtilis-Stamm beimpft waren. Pro Platte wurden vier Proben untersucht. Die Bebrütung erfolgte für 18 Stunden bei 37°C.

Für flüssige oder gallertige Untersuchungsstoffe empfiehlt sich der Agar-Lochtest, mit dem KAMPELMACHER et al.(1962) den Urin von Schlachttieren auf Anwesenheit von Hemmstoffen untersuchten. Sie spatelten eine 24 Std. alte Bouillonkultur des Staph. aureus bzw. albus nach Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung auf einer Agarplatte aus. In ein mit dem Korkbohrer aus dem Agar ausgestanztes 12 mm weites Loch wurde der Urin des geschlachteten Tieres pipettiert. Nach 18- bis 24-stündiger Bebrütung ließ sich am Auftreten einer Hemmzone erkennen, ob ein Hemmstoffgehalt vorlag.

Einen Schnelltest zum Hemmstoffnachweis in Urin von Schlachttieren beschreibt van SCHOTHORST (1970). Als Test-Organismus zur Untersuchung des Urins wird hierbei B. stearothermophilus var. calidolactis C 953 benutzt. Der Test wird durchgeführt in einer Mikrotiterschale. Als Nährboden dient TDYM Agar, dem Brillantschwarz als Indikator und die Testkultur zugesetzt werden. In jede Vertiefung der Schale wird 0,1 ml des Agar-Testkeim-Indikator-Gemisches pipettiert. Darauf wird je ein Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit gegeben. Nach einstündiger Diffusionszeit im Kühlschrank wird die überstehende Flüssigkeit entfernt. Mit einer Plastikfolie verschlossen werden die Schalen für 2 bis 3 Stunden in einem Wasserbad bei 60°C bebrütet. Danach kann die Reaktion abgelesen werden. Gelb: keine Anwesenheit von keimhemmenden

Stoffen; blau: hemmstoffpositive Reaktion.

Da in den Nieren natürliche Inhibine vorkommen, für die B. stearothermophilus var. calidolactis sehr empfindlich ist, schlägt van SCHOTHORST für den Test mit Nierenmaterial als Testkeim Sarcina lutea ATCC 9341 vor. Der in den Platten erstarrte Agar wird mit der Testkeimlösung überschichtet, im Brutschrank 30 Minuten bei 37°C getrocknet und kann dann in dieser Form eine Woche lang im Kühlschrank aufbewahrt werden. In die zu untersuchende Niere wird ein frischer Schnitt angelegt, jedoch ohne das Nierenbecken anzuschneiden. In diesen Schnitt werden zwei Filtrierpapierscheibchen (Ø 1,2 cm) gelegt, die nach 30 - 60 Minuten mit der Pinzette entnommen und auf den Agar verbracht werden. Pro Platte können maximal 6 Scheibchen untersucht werden. Die Bebrütung erfolgt für 18 bis 20 Stunden bei 37°C. Ein positives Resultat liegt vor, wenn der gesamte Hemmzonendurchmesser mehr als 15 mm beträgt.

Eine weitere Schnellmethode zum mikrobiologischen Nachweis von Hemmstoffen in tierischen Produkten empfiehlt KUNDRAT (1972). Als Testkeim benutzt er Bac. stearothermophilus. Der beimpfte Nährboden wird in übliche Petrischalen gefüllt und für 135 Minuten bei 65°C vorbebrütet. Für die eigentliche Untersuchung werden Filtrierpapierscheibchen mit der Testflüssigkeit getränkt - gegebenenfalls durch Einlegen in Organschnitte - und auf den vorbebrüteten Agar verbracht. Nach 45 Minuten Bebrütung bei 65°C kann abgelesen werden. Für geübte Betrachter soll bereits nach 15 Minuten die Unterscheidung einer hemmstoffpositiven bzw. -negativen Probe möglich sein.

Schließlich existiert noch eine vom "Arbeitskreis lebensmittelhygienisch-tierärztlicher Sachverständiger" (ALTS) verabschiedete Arbeitsanweisung für den Hemmstofftest (LEVETZOW, 1971). Dabei handelt es sich um einen Diffusionstest unter Verwendung eines standardisierten Nähragars und des Testkeims Bac. subtilis BGA. Der zu untersuchenden Probe wird ein etwa erbsengroßes Stück entnommen und auf den mit dem Teststamm versetzten Nährboden gelegt. Die Bebrütung erfolgt bei 30°C für 18 - 24 Stunden. Als positiv bewertet wird jede zweifelsfrei erkennbare Hemmzone von mindestens 1 mm.

C. Eigene Untersuchungen

Es wurde in BU-Muskelproben quantitativ und semiquantitativ der Keimgehalt bestimmt. Mit dem mechanisch aus der Muskulatur gepreßten Saft wurden entsprechende Untersuchungen durchgeführt. Zusätzlich wurden bei jeder Probe pH-Wert-Messungen und mit Nierengewebe Hemmstofftests vorgenommen.

I. Material

1. Für die Untersuchungen standen BU-Proben aus den Landesveterinäruntersuchungsämtern Berlin und Hannover zur Verfügung. Die Muskelproben dienten zur Bestimmung des unspezifischen Keimgehaltes, mit den Nieren wurde der Hemmstofftest durchgeführt.
Die Muskel- und Nierenproben stammten in 42 Fällen von Schweinen, in 29 Fällen von Rindern, dreimal von Kälbern und einmal vom Pferd.

II. Methodik

1. Semiquantitative Keimzahlbestimmungen

a) bei Muskulatur

Die übliche orientierende Keimzahlbestimmung wurde entsprechend dem in der Anlage 1 der AB.A zum Fleischbeschaugesetz vorgeschriebenen Verfahren durchgeführt. Ein würfelförmiges Stück von ca. 1 cm Kantenlänge wurde aus der Tiefe der Muskelprobe herauspräpariert und mit allen Flächen auf Nährboden ausgestrichen, der dann, abweichend von der AB.A, 48 Stunden lang bei 30°C bebrütet wurde. Für die Beurteilung wurde folgendes Schema verwendet:

1 - 50 Kolonien: +

50 - 100 Kolonien: ++

100 - 300 Kolonien: +++

mehr als 300 Kolonien: ++++

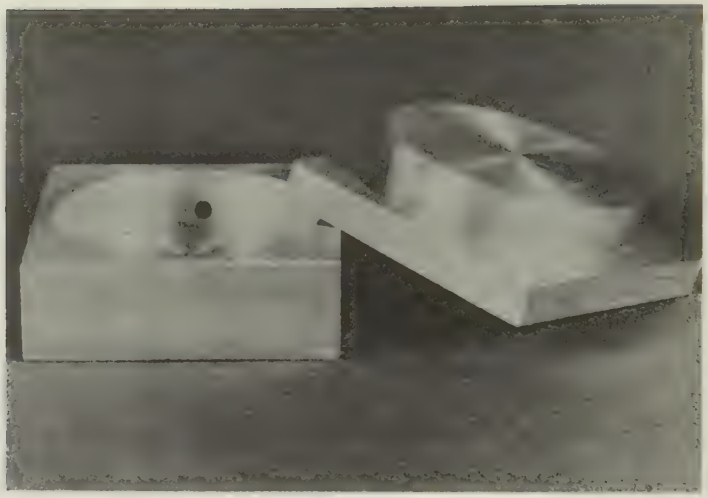
b) beim Ösenausstrich mit Muskelpreßsaft

b_1) Gewinnung des Muskelpreßsaftes

Zur Gewinnung des Muskelpreßsaftes wurde nach einem neuen Verfahren vorgegangen, das speziell zu dieser Arbeit entwickelt wurde und das sich in Vorversuchen als geeignet erwiesen hatte.

Als Fleischpresse dienten zwei sterilisierbare Aluminiumplatten (Kantenlänge 6 cm, Höhe 2 cm), von denen die untere eine runde Vertiefung (Durchmesser etwa 4 cm) mit einem Abfluß, die obere einen genau in diese Vertiefung passenden Stempel besaß. In die Vertiefung wurde ein Muskelstück gelegt, das steril aus der Probe herauspräpariert worden war und eine Kantenlänge von etwa 1 cm hatte. Jetzt wurden beide Platten mit Hilfe einer Zange (Gripfix, Dowidat 166 AP) zusammengepreßt, wie es Abb.1b zeigt. Nach kurzem Zusammendrücken der Griffe rastete die Zange ein, so daß ein gleichbleibender Druck auf das Probenstück ausgeübt wurde.

Abb. 1a



Fleischpresse

Abb. 1b

Fleischpresse mit Zange

Der heraustropfende Fleischpreßsaft wurde in einem sterilen Reagenzglas aufgefangen. Von jeder Probe wurden etwa 1,5 ml Muskelpreßsaft benötigt, wozu das Pressen mehrerer (etwa 4 - 8) der Probe steril entnommener Stückchen von oben beschriebener Größe erforderlich war.

b_2) Ösenausstrich-Verfahren

Hierzu wurde der gleiche Nährboden verwendet. Mit zwei kreuzförmigen Strichen auf dem Glasboden der Petrischale wurde die Nährbodenfläche in Quadranten eingeteilt, die numeriert wurden (I, II, III, IV). Mit einer kalibrierten Öse, die 0,002 ml Fleischpreßsaft aufnahm, wurde nacheinander jeder Quadrant in fortlaufender Reihenfolge nach einmaligem Eintauchen der Öse in den Fleischpreßsaft beimpft. Jeder Beimpfungsvorgang bestand in fortlaufender achtmaliger Bewegung der Öse auf die den Quadranten gegen den Uhrzeigersinn hin begrenzende Linie. Nach dem zweiten Quadranten erfolgte der Ausstrich von der zweiten Seite der Öse. Die Bebrütung der so beimpften Platten erfolgte ebenfalls 48 Stunden lang bei 30°C.

Von jeder Probe wurden drei Platten nach dem oben beschriebenen Ösenausstrichverfahren angelegt. Von diesen drei Platten wurde jeweils die am stärksten bewachsene gewertet.

Die Beurteilung der Ösenausstriche lautete

Ø = keimfrei
x = 1 bewachsener Quadrant
xx = 2 bewachsene Quadranten
xxx = 3 bewachsene Quadranten
xxxx = 4 bewachsene Quadranten.

Als bewachsen galt jeder Quadrant, in dem mindestens 1 Kolonie gewachsen war, wobei offensichtliche Kontaminationskeime nicht gewertet wurden.

2. Quantitative kulturelle Keimzahlbestimmungen in der Oberflächenkultur nach dem Spatelverfahren

a) im Muskelfleisch

Aus der Tiefe der Fleischprobe wurden 5 g Material steril herauspräpariert, mit einer Schere grob zerkleinert und in 45 ccm Verdünnungsflüssigkeit ca. 90 Sekunden bei etwa 20 000 U/min homogenisiert (Ultra Turrax, Fa. Janke u. Kunkel). Als Verdünnungsflüssigkeit diente physiologische Kochsalzlösung, der 0,1 % Pepton zugesetzt war. Das Homogenisat verblieb etwa zehn Minuten im Kühlschrank, wonach der inzwischen gut abgesetzten flüssigen Phase 1 ml entnommen und eine Verdünnungsreihe bis zur Stufe 10^{-6} hergestellt wurde. Auch hierbei diente als Verdünnungslösung NaCl-Peptonwasser. Aus jeder Verdünnungsstufe wurden 0,1 ml auf je eine Platte verbracht und mit einem sterilen Glasspatel verteilt. Die Bebrütung der beimpften Platten erfolgte bei 30°C für 48 Stunden.

Für die Auszählung wurden jeweils nur die Platten gewertet, auf denen zwischen 30 und 300 Kolonien gewachsen waren. Von diesen auszuwertenden Platten wurde jeweils die Anzahl der in der niedrigsten Verdünnungsstufe gewachsenen Kolonien mit dem jeweiligen Verdünnungsfaktor multipliziert, um die Keimzahl in 1 Gramm Fleisch zu ermitteln. Bei dieser Berechnung wurde auch der Faktor berücksichtigt, der dadurch entsteht, daß nur 0,1 ml auf der jeweiligen Platte ausgespatelt wurde.

b) im Muskelpreßsaft

Von dem steril gewonnenen Muskelpreßsaft wurde 1 ml für die Verdünnungsreihe abpipettiert. Daraus wurden Verdünnungen bis zur Stufe 10^{-6} angelegt, mit Na-Cl-Peptonwasser als Verdünnungsmedium.

Jeweils 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe wurden auf je einer Platte ausgespatelt, bei 30°C 48 Stunden lang bebrütet und die Kolonien dann ausgezählt. Die Auswertung erfolgte wie unter a) beschrieben.

In allen Versuchsreihen wurde zur Bestimmung des unspezifischen Keimgehaltes der folgende, von SINELL, REUTER und UNTERMANN (1965) vorgeschlagene Nährboden verwendet.

Trypton	15 g
Glukose	1 g
Hefeextrakt	5 g
Fleischextrakt	3 g
Agar	15 g

Aqua.dest. ad 1 000 ml

pH = 7,2 bis 7,4 (bei 20°C).

3. Messung des pH-Wertes im Muskelpreßsaft

In Vorversuchen hierzu wurde die Zuverlässigkeit der pH-Indikatorstäbchen "Alkalit" und "Neutralit" der Firma Merck mit einem geeichten elektrischen pH-Meter überprüft. Da in diesen Vergleichen die Ergebnisse der einzelnen Messungen übereinstimmten, wurden zur Messung des pH-Wertes im Muskelpreßsaft die oben erwähnten Indikatorstäbchen benutzt. Die Meßstäbchen wurden in den Fleischpreßsaft eingetaucht, nachdem davon schon die entsprechenden Mengen für Verdünnungsreihe und Ösen-

ausstriche entnommen waren. Das Feststellen des pH-Wertes erfolgte nach Vergleich mit entsprechenden Farbskalen.

4. Durchführung des Hemmstofftests

Zur Herstellung der Platten für den Hemmstofftest waren folgende Vorbereitungen notwendig: Standard-II-Nähragar Merck wurde nach massiver Ösenbeimpfung mit Bac. subtilis BGA 10 Tage bei 30°C bebrütet. Danach erfolgte Abschwemmung mit steriler physiologischer NaCl-Lösung. Die erhaltene Suspension wurde bei 3000 U/min 10 Minuten lang zentrifugiert, das Sediment in steriler physiologischer NaCl-Lösung aufgenommen und abermals 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Nach Abgießen des Überstandes wurde sterile physiologische NaCl-Lösung zugegeben und 30 Minuten bei 70°C erhitzt. Die so gewonnene Sporensuspension wurde auf eine Dichte von ca. 10^7 Sporen/ml eingestellt.

Die Herstellung des eigentlichen Standard-II-Nährbodens für den Hemmstofftest ging so vor sich, daß zuerst je 500 ml verflüssigten Nährmediums auf pH 6,0 und pH 8,0 eingestellt wurden. Zu je 500 ml, die auf + 50°C abgekühlt worden waren, wurden 0,5 ml der Sporensuspension des Testkeims gegeben. Nach gründlichem, aber vorsichtigen Schütteln wurde das erhaltene Gemisch in sterile Petrischalen ausgegossen. Nach Erstarrung der nunmehr einsatzfähigen Platten wurden auf jede Platte etwa erbsengroße, mit dem Korkbohrer herausgehobene Nierenstückchen verbracht.

Das Ablesen erfolgte nach einer Bebrütung von mindestens 18 Stunden bei 30°C. Jede zweifelsfrei zu erkennende Hemmung mit einer Hemmzone von mindestens 1 mm wurde als positiv bewertet.

5. Temperaturmessungen

Für die Untersuchungen zur Verbesserung des Probenversands wurden Kartons benutzt, deren Innenflächen mit 2,5 cm dicken Styropor(R)-Platten isoliert waren. Die Innenmaße dieser Behälter betrugen 29,5 x 20,0 x 24,5 cm, woraus sich ein beladbarer Rauminhalt von etwa 14,5 l ergab. Diese Behälter wurden beschickt mit bei + 4 bis + 5°C vorgekühlten Fleischproben und handelsmäßig für Kühltaschen erhältlichen Kühlelementen, die auf eine Temperatur von etwa - 20°C abgekühlt waren. Die Temperaturmessungen wurden mit einem Ellab-Meßgerät unter Zuhilfenahme von Einstichelektroden durchgeführt.

Die Temperaturmessungen in der Tiefe des in dem styroporisolierten Behälter befindlichen Fleisches wurden bei vorgegebenen fixen Außentemperaturen von ± 0, + 5, + 10, + 15, + 20, + 25 und + 30°C in einem Klimaschrank vorgenommen. Bei jeder dieser gegebenen Umgebungstemperaturen wurden drei Messungen durchgeführt, bei denen Fleisch und Kühlelemente in bestimmten Gewichtsrelationen zueinander standen. Zu dieser Arbeit standen Kühlelemente zur Verfügung, deren Gewicht jeweils zwischen 200 und 800 g lag.

Im Durchschnitt wurden die Kartons mit zwei Beuteln Fleisch von je einem Gewicht zwischen 300 und 600 g sowie der jeweils entsprechenden Gewichtsmenge an Kühlelementen beschickt. Folgende Gewichtsrelationen wurden geprüft:

1. Fl.: KE. = 1 : 2

2. Fl.: KE. = 1 : 1

3. Fl.: KE. = 2 : 1

Die 20 cm langen Einstich-Elektroden zur Temperaturmessung wur-

den von außen im Abstand von etwa 10 cm durch den Karton und die Styroporschicht hindurchgeführt. Eine Elektrode wurde bis etwa in das Zentrum des Fleisches eingestochen, die andere verblieb mit der Spitze unmittelbar (1 - 2 mm) unter der Fleischoberfläche. Die Elektroden waren auf diese Weise fixiert.
Der Karton wurde in den Klimaschrank gestellt, die Verbindungskabel an den Elektroden wurden durch eine Seitenöffnung aus dem Klimaschrank herausgeführt und an das Meßgerät angeschlossen, auf dem dann jeweils die Kern- und Oberflächentemperatur des Fleisches abgelesen wurde.
Die Temperaturmessungen wurden vorgenommen

1. unmittelbar, nachdem der vorschriftsmäßig gepackte Behälter in den Klimaschrank mit der eingestellten Umgebungstemperatur verbracht worden war (Anfangstemperatur);
2. nach drei Stunden;
3. nach 24 Stunden;
4. nach 30 Stunden (Endtemperatur).

III. Ergebnisse

In Tabelle 1 sind von jeder untersuchten Muskelprobe die Ergebnisse der pH-Wert-Messungen, der Keimzahlbestimmungen im Homogenisat, Muskelausstrich, Ösenausstrich mit Muskelpreßsaft, Keimzahlbestimmungen im Muskelpreßsaft sowie Ausfall des Hemmstofftests wiedergegeben.
Der pH-Wert der einzelnen Muskelproben schwankte zwischen 5,5 und 6,9.
Der mit Gewebsproben aus der Niere durchgeführte Hemmstofftest fiel in 8 von 75 Fällen = 10,6 % positiv aus, davon viermal in beiden pH-Bereichen, einmal lediglich im sauren und dreimal

ausschließlich im alkalischen Bereich. Zwei der hemmstoffpositiven Proben waren keimfrei, sowohl im Homogenisat als auch im Muskelpreßsaft. In einem Fall war die hemmstoffpositive Probe schwach keimhaltig, in den anderen Fällen mittelgradig bis stark keimhaltig. Von den Rind- und Schweineproben fiel je dreimal der Hemmstofftest positiv aus, zweimal waren Kälberproben hemmstoffpositiv. Der durch Homogenisierung von Fleisch ermittelte Keimgehalt schwankte zwischen keimfrei und einer Größenordnung von 8×10^7 Keimen/g. Im Muskelpreßsaft lagen die Keimzahlen zwischen keimfrei und 10^8 Keimen pro ml. Bei 12 Proben (= 16 %) waren Homogenisat und Muskelpreßsaft übereinstimmend keimfrei, in 23 Fällen (= 30,7 %) differierten die Keimzahlen um weniger als 1 Zehnerpotenz und in 40 Fällen (= 53,3 %) um mehr als eine Zehnerpotenz, wobei in nur 6 Fällen die Keimzahlen im Muskelpreßsaft unter denen des Homogenisats lagen.

Eine Übereinstimmung bezüglich der Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen im Homogenisat und im Fleischpreßsaft liegt demnach zu 36,7 % vor, d.h. die Ergebnisse beider Untersuchungsverfahren lauten keimfrei oder liegen innerhalb der gleichen Zehnerpotenz. In etwa 59 % der untersuchten Proben lagen die Keimzahlen im Fleischpreßsaft um mindestens eine Zehnerpotenz höher, in 4 % um mindestens eine Zehnerpotenz niedriger als im Homogenisat.

Bei zehn Proben war das Homogenisat keimfrei, während im entsprechenden Muskelpreßsaft 10^2 bis 9×10^5 Keime/g gefunden wurden. In diesen Fällen wurden sowohl im Muskelausstrich als auch im Ösenausstrich Keime gefunden. Bei zwei Proben (Nr. 28 und 31), deren Muskelpreßsaft und Ösenausstrich keimfrei waren, fanden sich 10^2 bis 10^3 Keime/g im Homogenisat und 1 - 50 Keime

im Muskelausstrich.

Von zehn Fällen, in denen die Keimzahl im Homogenisat unter 10^3/g lag, wurden in acht Fällen weniger als 50 Keime im Muskelausstrich gefunden, einmal 100 - 300 und einmal mehr als 300. In sieben Fällen lagen die Keimzahlen im Homogenisat bei 10^3 bis 10^4/g. Hierbei wurden in einem Fall 50 - 100, dreimal 100 bis 300 und dreimal mehr als 300 Kolonien im Muskelausstrich gezählt. Bei Keimzahlen von 1,0 und 5,2 x 10^4/g im Homogenisat war im ersten Fall (Probe 40) der Muskelausstrich keimfrei, im zweiten Fall (Nr. 46) fanden sich 1 - 50 Kolonien. Bei Proben, deren Keimgehalt pro Gramm Muskulatur unter 9,0 x 10^2 lag (Nr. 23 bis 32), deren Keimzahlen also die Zehnerpotenz von 10^2 nicht überstiegen, lagen die Keimzahlen im Muskelausstrich - bis auf zwei Ausnahmen (Nr. 26 und 32) - unter 50, was im Sinne der AB.A der Beurteilung "schwach keimhaltig" entspräche. Die Ösenausstriche in diesem Bereich erbrachten weniger einheitliche Ergebnisse. Hierbei fanden sich sowohl keimfreie (Nr. 27, 28, 31) Ösenausstriche als auch ein Ösenausstrich, in dem 2 (Nr. 32) und einer, in dem 3 (Nr. 26) Quadranten bewachsen waren. In der Mehrzahl der Fälle (Nr. 23, 24, 25, 29, 30) war jeweils ein Quadrant bewachsen.

Ab 10^3 Keime/g Muskulatur fand sich - außer in den Proben Nr. 33, 40 und 46 - im Muskelausstrich ein Keimgehalt von mindestens 100 Keimen, im Sinne der AB.A folglich mit "stark keimhaltig" zu beurteilen. Die Ösenausstriche erbrachten vergleichsweise ähnliche Ergebnisse und wichen mit Ausnahme

der Proben Nr. 32, 34, 38 und 40 nie um mehr als + voneinander ab.

Ab 10^5 Keimen/g Muskulatur sind bis auf die Muskelausstriche Nr. 55 und 66 sowohl Muskelausstriche als auch Ösenausstriche übereinstimmend sehr stark bewachsen (++++ und xxxx).

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Ösenausstriche und der Keimzählungen im Muskelpreßsaft noch einmal gesondert gegenübergestellt. Hieraus ist ablesbar, daß in 12 Fällen sowohl beim quantitativen Muskelpreßsaftverfahren als auch beim Ösenausstrichverfahren übereinstimmend Keimfreiheit vorlag. Bis zu einem Keimgehalt von 10^3/ml Muskelpreßsaft war bis auf drei Ausnahmen (Nr. 20, 34 und 35) beim Ösenausstrichverfahren jeweils 1 Quadrant bewachsen. Bei 10^4 Keimen/ml Muskelpreßsaft waren größtenteils zwei Quadranten bewachsen, zweimal 3 und einmal 4 Quadranten, ab 10^5 Keimen/ml waren bei allen Proben 4 Quadranten bewachsen.

Die Ergebnisse der Temperaturmessungen sind in Tabelle 3a und 3b aufgezeichnet. Aus dieser Tabelle sind die Temperaturen in der Tiefe der Fleischprobe und an der Fleischoberfläche ablesbar, und zwar bei der jeweils gegebenen Außentemperatur und bei den einzelnen Gewichtsrelationen zwischen Muskulatur und Kühlelementen.

Die ermittelten Werte geben die Temperaturen zum Zeitpunkt unmittelbar nach der Beschickung als 0, sowie nach 3, 24 und 30 Stunden an.

In Tabelle 4 sind die Anfangstemperaturen im Kern und an der Oberfläche der Muskulatur angegeben, sowie die Werte der Endtemperaturen nach 30 Stunden.

Aus den Temperaturdifferenzen, in °C angegeben, ergibt sich die graphische Darstellung in Abb. 2.
Auf der Abszisse sind die in den einzelnen Versuchen festgelegten Umgebungstemperaturen der Behälter, auf der Ordinate die Temperaturdifferenzen aufgetragen. Oberhalb der Abszisse handelt es sich um einen Temperaturanstieg, unterhalb um einen Temperaturabfall, nicht um Minus-Temperaturen. Ein maximaler Abfall der Temperatur ist bei der Außentemperatur von +5°C zu verzeichnen. Hier fiel die Temperatur im Fleischzentrum bei einer Gewichtsrelation von Fleisch : Kühlelement = 1 : 2 um 9 Grad, und zwar von einer Temperatur von + 8°C auf - 1,0°C. Den maximalen Anstieg im Fleischzentrum finden wir bei einer Außentemperatur von + 30°C in dem Fall, in dem das Gewicht des Fleisches das Doppelte des Kühlelements betrug. Die geringste Temperaturdifferenz zwischen Anfangs- und Endtemperatur lag bei einer Umgebungstemperatur von + 15°C vor. Hierbei stieg die Temperatur während 30 Stunden um 1°C; das Gewicht der Kühlelemente war in diesem Fall doppelt so hoch wie das des Fleisches.
Bis zu einer Außentemperatur von + 10°C fand bei jeder der angewendeten Gewichtsrelationen ein Abfall der Kerntemperatur statt, während ab + 15°C in jedem Fall die Kerntemperatur anstieg. Der geringste Anstieg war zu vermerken bei + 15°C Umgebungstemperatur und der Gewichtsrelation Fleisch : Kühlelement = 1 : 2, am stärksten stieg die Temperatur bei + 30°C Umgebungstemperatur und in dem Fall, in dem das Fleischgewicht das Doppelte des Gewichtes der Kühlelemente betrug.

Tabelle 1

Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse von 75 untersuchten Proben

(Quantitativer und semiquantitativer Keimgehalt in Muskulatur und Muskelpreßsaft, pH-Wert, Hemmstofftest)

Nr.	pH	gemäß AB.A durchgeführter Ausstrich	Logarithmische Keimzahlen/g Muskulatur (Homogenisat)	Ösenausstrich des Muskelpreßsaftes	Logarithmische Keimzahlen/ml Muskelpreßsaft	Hemmstofftest pH 6,0	Hemmstofftest pH 8,0
1	5,7	ø	ø	ø	ø	-	-
2	5,7	ø	ø	ø	ø	+	+
3	5,7	ø	ø	ø	ø	-	-
4	6,7	ø	ø	ø	ø	-	-
5	6,3	ø	ø	ø	ø	-	-
6	6,3	ø	ø	ø	ø	-	-
7	5,7	ø	ø	ø	ø	+	+
8	5,7	ø	ø	ø	ø	-	-
9	6,3	ø	ø	ø	ø	-	-
10	5,6	ø	ø	ø	ø	-	-
11	5,5	ø	ø	x	ø	-	-
12	6,1	+	ø	x	ø	-	-
13	6,3	+	ø	x	2,00	-	-
14	5,5	+	ø	x	2,48	-	-

Fortsetzung von Tabelle 1

Nr.	pH	gemäß AB.A durchgeführter Ausstrich	Logarithmische Keimzahlen/g Muskulatur (Homogenisat)	Ösenausstrich des Muskelpreßsaftes	Logarithmische Keimzahlen/ml Muskelpreßsaft	Hemmstofftest pH 6,0	Hemmstofftest pH 8,0
15	5,7	+	Ø	x	2,60	-	-
16	6,3	+	Ø	x	2,90	-	-
17	6,3	+	Ø	x	3,11	-	-
18	6,4	+	Ø	x	3,23	-	-
19	5,5	+	Ø	x	3,30	-	-
20	5,5	+++	Ø	xxx	3,99	-	-
21 x	6,3	++	Ø	xxx	4,90	-	-
22	6,7	+	Ø	xxxx	5,81	-	-
23	6,5	+	< 2,0	x	< 2,0	+	-
24	5,7	+	< 2,0	x	< 2,0	-	-
25	6,7	+	< 2,0	x	3,80	-	-
26	6,3	+++	< 2,0	xxx	4,42	-	-
27	5,6	+	2,00	Ø	2,70	-	-
28	5,7	+	2,30	Ø	Ø	-	-
29 x	6,0	+	2,30	x	3,42	+	+
30 x	6,4	+	2,60	x	3,52	-	-
31	6,2	+	2,95	Ø	Ø	-	-
32	5,7	++++	2,70	xx	4,18	-	-

Fortsetzung von Tabelle 1

Nr.	pH	gemäß AB.A durchgeführter Ausstrich	Logarithmische Keimzahlen/g Muskulatur (Homogenisat)	Ösenausstrich des Muskelpreßsaftes	Logarithmische Keimzahlen/ml Muskelpreßsaft	Hemmstofftest pH 6,0	Hemmstofftest pH 8,0
33	5,5	++	3,04	xxx	4,26	-	-
34	5,7	++++	3,14	xx	3,56	-	-
35	5,5	+++	3,20	xxx	3,63	-	-
36	6,4	+++	3,18	xxxx	5,42	-	-
37	6,2	++++	3,43	xxxx	4,32	-	-
38 x	5,7	++++	3,60	xx	4,32	-	-
39 x	6,5	+++	3,70	xx	4,38	-	+
40 x	6,2	ø	4,00	xx	4,32	-	-
41 x	6,8	++++	4,00	xxxx	8,0	-	+
42	5,7	++++	4,04	xxxx	6,15	-	-
43 x	6,4	+++	4,11	xx	4,04	-	-
44	5,7	+++	4,30	xxxx	7,15	-	-
45	6,7	++++	4,69	xxxx	7,49	-	-
46	6,7	+	4,72	x	3,40	-	-
47 x	6,7	++++	4,89	xxxx	5,81	-	-
48 x	6,9	++++	4,90	xxxx	7,60	+	+
49 x	5,7	++++	5,08	xxxx	6,86	-	-
50 x	5,7	++++	5,15	xxxx	6,94	-	-

Fortsetzung von Tabelle 1

Nr.	pH	gemäß AB.A durchgeführter Ausstrich	Logarithmische Keimzahlen/g Muskulatur (Homogenisat)	Ösenausstrich des Muskelpreßsaftes	Logarithmische Keimzahlen/ml Muskelpreßsaft	Hemmstofftest pH 6,0	Hemmstofftest pH 8,0
51 x	6,5	++++	5,18	xxxx	5,30	-	+
52 x	5,6	++++	5,18	xxxx	5,04	-	-
53	6,0	++++	5,18	xxxx	7,08	-	-
54	5,9	++++	5,20	xxxx	6,83	-	-
55	5,7	+++	5,23	xxxx	6,64	-	-
56 x	6,1	++++	5,29	xxxx	7,83	-	-
57 x	5,7	++++	5,34	xxxx	5,94	-	-
58 x	5,7	++++	5,34	xxxx	6,84	-	-
59 x	5,7	++++	5,46	xxxx	7,74	-	-
60 x	6,3	++++	5,65	xxxx	7,04	-	-
61	6,4	++++	5,79	xxxx	7,11	-	-
62 x	6,4	++++	5,94	xxxx	8,01	-	-
63 x	5,7	++++	6,00	xxxx	7,08	-	-
64 x	5,9	++++	6,04	xxxx	6,88	-	-
65 x	5,9	++++	6,04	xxxx	7,15	-	-
66 x	5,9	+++	6,08	xxxx	6,92	-	-
67 x	6,7	++++	6,12	xxxx	6,26	-	-
68 x	6,7	++++	6,15	xxxx	7,62	-	-

Fortsetzung von Tabelle 1

Nr.	pH	gemäß AB.A durchgeführter Ausstrich	Logarithmische Keimzahlen/g Muskulatur (Homogenisat)	Ösenausstrich des Muskelpreßsaftes	Logarithmische Keimzahlen/ml Muskelpreßsaft	Hemmstofftest pH 6,0	Hemmstofftest pH 8,0
69 x	5,7	++++	6,23	xxxx	7,11	-	-
70 x	5,9	++++	7,28	xxxx	7,46	-	-
71 x	6,2	++++	6,28	xxxx	7,57	-	-
72 x	6,3	++++	7,34	xxxx	7,52	-	-
73 x	6,4	++++	7,60	xxxx	7,04	-	-
74 x	6,7	++++	6,77	xxxx	7,87	-	-
75 x	5,7	++++	6,94	xxxx	7,83	-	-

x = untersucht im Sommer 1972

keimfrei: ø
hemmstoffnegativ: -
hemmstoffpositiv: +

Spalte 3: 1 - 50 Kolonien: +
50 - 100 Kolonien: ++
100 - 300 Kolonien: +++
mehr als 300 Kolon.:++++

Spalte 5: 1 Quadrant bewachsen: x
2 Quadranten bewachsen: xx
3 Quadranten bewachsen: xxx
4 Quadranten bewachsen: xxxx

Tabelle 2

Keimwachstum im Ösenausstrich und quantitativer Keimgehalt im Muskelpreßsaft

(Logarithmische Keimzahlen/ml Muskelpreßsaft)

Nr.	Ösenausstrich	log der Keimzahl/ml Muskelpreßsaft
1	ø	ø
2	ø	ø
3	ø	ø
4	ø	ø
5	ø	ø
6	ø	ø
7	ø	ø
8	ø	ø
9	ø	ø
10	ø	ø
28	ø	ø
31	ø	ø
11	x	ø
12	x	ø
23	x	2,0
24	x	2,0
13	x	2,0
14	x	2,48
15	x	2,60
27	ø	2,70
16	x	2,90
17	x	3,11
18	x	3,23
19	x	3,30
46	x	3,40
29	x	3,42
30	x	3,52
25	x	3,80
34	xx	3,56
35	xxx	3,63
[illegible]	xxx	3,[illegible]

Fortsetzung von Tabelle 2

Nr.	Ösenausstrich	log der Keimzahl/ml Muskelpreßsaft
43	xx	4,04
32	xx	4,18
33	xxx	4,26
38	xx	4,32
40	xx	4,32
39	xx	4,38
26	xx	4,42
21	xxx	4,90
37	xxxx	4,32
52	xxxx	5,04
51	xxxx	5,30
36	xxxx	5,42
22	xxxx	5,81
47	xxxx	5,82
57	xxxx	5,94
42	xxxx	6,15
67	xxxx	6,26
55	xxxx	6,64
54	xxxx	6,83
58	xxxx	6,84
49	xxxx	6,86
64	xxxx	6,88
66	xxxx	6,92
50	xxxx	6,94
60	xxxx	7,04
73	xxxx	7,04
63	xxxx	7,08
61	xxxx	7,11
69	xxxx	7,11

Fortsetzung von Tabelle 2

Nr.	Ösenausstrich	log der Keimzahl/ml Muskelpreßsaft
53	xxxx	7,08
44	xxxx	7,15
65	xxxx	7,15
70	xxxx	7,46
45	xxxx	7,49
72	xxxx	7,52
71	xxxx	7,57
43	xxxx	7,60
68	xxxx	7,62
50	xxxx	7,74
56	xxxx	7,83
75	xxxx	7,83
74	xxxx	7,87
41	xxxx	8,00
62	xxxx	8,01

keimfrei: Ø

1 Quadrant bewachsen: x

2 Quadranten bewachsen: xx

3 Quadranten bewachsen: xxx

4 Quadranten bewachsen: xxxx

Temperaturmessungen im Kern der Muskulatur

Fl : KE	Std.	Umgebungstemperatur						
		± 0°C	+ 5°C	+ 10°C	+ 15°C			+ 30°C
1 : 0	0	+ 6,5	+ 8,0	+ 7,0	+ 6,0	+ 5,0	+ 5,0	+ 3,9
	3	± 0,0	- 1,[illegible]	- 1,0	+ 4,5	+ 7,0	+ 6,0	+ 4,1
	[illegible]	± [illegible]	- [illegible]	- 1,[illegible]	+ 3,7	+ 6,7	+13,[illegible]	+18,8
	24	+ 0,[illegible]	- 1,0	- 0,9	+ 7,0	+ 7,0	+19,1	+21,0
1 : 1	0	+ 5,0	+ 3,8	+ 1,0	+ 4,0	+ 7,5	+13,0	+ 3,5
	3	+ 0,5	- 1,0	+ 1,0	+ 4,5	+ 6,0	+11,2	+ 5,0
	24	± 0,0	- 1,5	± 0,0	+ [illegible],6	+13,0	+21,9	+25,0
	[illegible]	+ 0,1	- 1,7	+ 0,[illegible]	+ [illegible]	+13,5	+24,0	+27,5
2 : 1	[illegible]	+ [illegible],[illegible]	+ 8,0	+ 7,[illegible]	+ 0,5	+ 5,5	+ 5,5	+ 4,0
	3	+ 3,0	+ 1,1	+ 1,9	+ 3,5	+ 5,0	+ 8,8	+ 7,2
	[illegible]4	+ 1,0	± [illegible],0	+ 1,8	+12,9	+19,9	+21,9	+26,0
	[illegible]	+ [illegible],[illegible]	[illegible]	[illegible],[illegible]	+[illegible],[illegible]	+20,0	+[illegible],[illegible]	+29,0

[illegible] Platte

[illegible] Platte

Tab. [illegible]

Temperaturmessungen an der Oberfläche der Muskulatur

Fl : KE	Std.	Umgebungstemperatur ± 0°C	+ 5°C	+10°C	+ 15°C	+ 20°C	+ 25°C
1 : 2	0	+ 4,1	+12,0	+ 8,0	+ 8,0	+ 5,0	+ 7,0
	3	- 1,4	+ 1,0	+ 0,4	+ 2,4	+ 6,2	+ 6,3
	24	- 1,0	- 0,9	+ 0,4	+ 3,5	+ 8,1	+12,5
	30	- 0,5	- 0,7	+ 0,7	+ 7,0	+ 8,9	+19,0
1 : 1	0	+ 5,8	+ 3,8	+ 9,1	+ 7,0	+ 6,5	+11,0
	3	± 0,0	- 1,0	+ 3,4	+ 4,3	+ 2,5	+ 8,3
	24	± 0,0	- 0,7	+ 1,5	+ 7,5	+12,0	+22,1
	30	+ 0,1	- 0,6	+ 1,9	+10,5	+14,0	+24,1
2 : 1	0	+ 6,5	+ 7,0	+ 8,0	+ 4,0	+ 5,0	+ 9,0
	3	+ 2,5	+ 1,6	+ 2,0	+ 4,5	+ 2,0	+ 9,9
	24	+ 0,5	+ 0,9	+ 2,2	+ 13,0	+19,7	+22,0
	30	+ 0,5	+ 0,9	+ 3,4	+13,4	+20,1	+24,1

Fl = Fleisch
KE = Kühlelement

Tab. 3b

bei +30°C nicht gemessen

Anfangstemperatur und Endtemperatur nach 30 Stunden

Fl : E	1 : 2				1 : 1				2 : 1			
Umgebungs-Temperatur	Fleisch-Zentrum		Fleisch-Oberfläche		Fleisch-Zentrum		Fleisch-Oberfläche		Fleisch-Zentrum		Fleisch-Oberfläche	
	Anf.-Temp.	End-Temp.	Anf.-Temp.	End.-Temp.	Anf.-Temp.	End-Temp.	Anf.-Temp.	End-Temp.	Anf.-Temp.	End-Temp.	Anf.-Temp.	End-Temp.
0°C	+ 6,5	+ 0,2	+ 4,1	- 0,5	+ 5,0	+ 0,1	+ 5,8	+ 0,1	+ 7,5	+ 1,0	+ 6,5	+ 0,5
5°C	+ 8,0	- 1,0	+12,0	- 0,7	+ 3,8	- 1,7	+ 3,8	- 0,6	+ 8,0	+ 0,2	+ 7,0	+ 0,9
10°C	+ 7,0	- 0,8	+ 8,0	+ 0,7	+ 7,5	+ 0,3	+ 9,1	+ 1,9	+ 7,9	+ 2,5	+ 8,0	+ 3,4
15°C	+ 6,0	+ 7,0	+ 8,0	+ 7,0	+ 4,0	+10,3	+ 7,0	+10,5	+ 0,5	+13,3	+ 4,0	+13,4
20°C	+ 5,0	+ 7,0	+ 5,0	+ 8,9	+ 7,5	+13,5	+ 6,5	+14,0	+ 5,5	+20,0	+ 5,0	+20,1
25°C	+ 5,0	+19,1	+ 7,0	+19,0	+13,0	+24,0	+11,0	+21,1	+ 5,5	+23,9	+ 9,0	+24,1
30°C	+ 3,9	+21,0	-	-	+3,5	+27,5	-	-	+ 4,0	+29,0	-	-

= Fleisch

= Kühlelement

Tab. 4

Temperaturdifferenzen in der Tiefe der Fleischproben zwischen dem jeweiligen Ausgangswert und nach 30 Std. Aufbewahrung bei unterschiedlicher Umgebungstemperatur

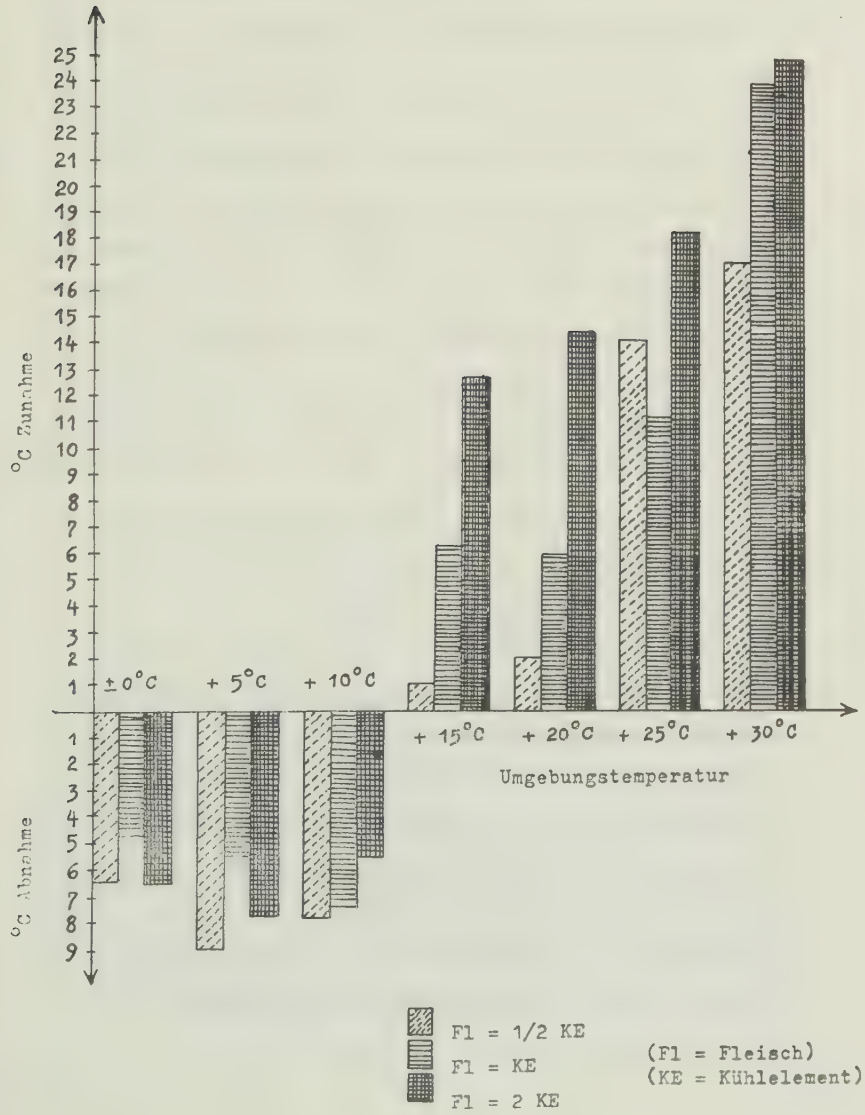


Abb. 2

D. Diskussion der Ergebnisse

Wie eingangs schon erwähnt, ist die bisherige Methode zur Bestimmung des unspezifischen Keimgehaltes in der bakteriologischen Fleischuntersuchung, wobei ein aus der Tiefe der Organe bzw. der Muskulatur steril herauspräpariertes Probenstück auf einem Nährboden auszustreichen ist, vielfach ungenau. Ein besserer Überblick über den bakteriologischen Status ist mit Sicherheit zu erhalten, wenn das Untersuchungsgut einer vorherigen Zerkleinerung unterworfen wird. Der Grundgedanke der vorliegenden Arbeit war daher, daß der aus der zu untersuchenden Muskulatur mechanisch gepreßte Saft ähnlich wie bei einem Homogenisat einen objektiveren Eindruck der Bakterienbesiedlung im Innern der Muskulatur geben könnte. Anlaß für diese Überlegungen boten Mitteilungen in der Literatur, die sich mit dem Keimgehalt im Fischpreßsaft und Auftauwasser befaßten.
LERKE, ADAMS und FABER (1963) stellten fest, daß die im Preßsaft aus Fischmuskulatur gefundenen Keime repräsentativ für die dort befindliche Keimflora waren. MITCHELL (1970) taute Proben aus gefrorenem Fisch auf und verglich den Keimgehalt des beim Auftauen im Wasserbad austretenden Saftes mit dem im Homogenisat ermittelten Keimgehalt. Hierbei fand er bezüglich der Keimausbeute seinen Angaben nach keinen signifikanten Unterschied zwischen der beim Auftauen austretenden Flüssigkeit und dem Homogenisat. Er vertrat daher den Standpunkt, daß die Untersuchung des Auftauwassers einen Überblick über den quantitativen Keimgehalt in der Fisch-Muskulatur gibt.

Ein Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit läßt nicht ohne weiteres die gleichen Rückschlüsse zu. Wie aus den ermittelten Werten hervorgeht, lagen zu 73,3 %, d.h. also in der Mehrzahl der Untersuchungen, die Keimzahlen im Muskelpreßsaft geringgradig bis wesentlich höher als im Homogenisat, im Extremfall bis zu 4 Zehnerpotenzen höher. Die Ursache hierfür liegt offensichtlich in der Tatsache, daß in der Mehrzahl der Fälle mehr als 5 bis zu 10 Muskelstückchen (etwa je 1 cm^3) ausgepreßt werden mußten, um 1 ml Fleischpreßsaft zu gewinnen, während zur Keimzahlbestimmung in der Muskulatur mittels Homogenisat jeweils immer von 1 g Muskulatur als Bezugsgröße ausgegangen wurde. Aus dem Keimgehalt in 1 ml Fleischpreßsaft läßt sich demnach nicht auf die nach dem eingangs beschriebenen Verfahren durch Homogenisieren bestimmte Keimzahl in 1 g Fleisch schließen.
Das erklärt auch die zehn Fälle, in denen sich das Homogenisat im Gegensatz zum Fleischpreßsaft als keimfrei herausstellte. Der geringe Prozentsatz der Proben, bei dem im Homogenisat mehr Keime als im Muskelpreßsaft gefunden wurden, widerspricht zunächst der allgemeinen Tendenz. Es mag zustande gekommen sein bei besonders stark wasserhaltigen, d.h. substantiell verändertem Fleisch, bei dem im allgemeinen das Auspressen von nur zwei Fleischstückchen zur Gewinnung der erforderlichen Menge Muskelpreßsaft genügte. Bei gefrorenem und wieder aufgetautem Fleisch ergab oftmals schon das Pressen nur eines Fleischstückchens die benötigte Menge Saft.
Bei den Proben Nr. 28, 31 und 46 lag der Keimgehalt im Muskel-

preßsaft im 1 bis 2 Zehnerpotenzen niedriger als im Homogenisat, bei Nr. 43, 52 und 73 differierte der Keimgehalt im Muskelpreßsaft innerhalb der gleichen Zehnerpotenz zugunsten des Keimgehaltes im Homogenisat.

Der größte Unsicherheitsfaktor hinsichtlich der Auswertung bzw. Beurteilung des Ösenausstrichs lag in den Bereichen von 10^3 und 10^4 Keimen/g Muskulatur. Innerhalb dieser Keimzahlen zeigten sich bei den Proben einmal 1 Quadrant, fünfmal 2 Quadranten, zweimal drei und achtmal 4 Quadranten bewachsen, während ab 10^5 Keimen/g Muskulatur übereinstimmend alle Quadranten bewachsen waren.

Demnach gibt der nach eingangs beschriebenem Muster durchgeführte Ösenausstrich nicht mit Sicherheit Aufschluß über den Keimgehalt im Muskelfleisch. Hierbei liegt die Vermutung nahe, daß die Einteilung in Quadranten zu grob war und daß gegebenenfalls eine Einteilung der Agarfläche in mehr als vier gleichgroße Segmente genauere Schlüsse hinsichtlich der Keimbesiedlung im Muskelfleisch zulassen könnte.

Hinsichtlich der Durchführung dieser Methode in der Routineuntersuchung ist es empfehlenswert, aus beiden Muskelproben M_1 und M_2 je einen Würfel von der Kantenlänge 1 cm steril herauszupräparieren. Beide Fleischstücke werden dann getrennt gepreßt. Von jeder Probe wird je 1 Ausstrich angefertigt.

Da sich in den Untersuchungen der dreifach angelegte Ösenausstrich hinsichtlich des Keimwachstums bzw. der Anzahl der bewachsenen Quadranten nur selten unterschied, erscheint das Anlegen einer Platte zur Bewertung des Keimgehalts ausreichend.

Im allgemeinen war eine gute Korrelation zwischen Ösenausstrich und Keimgehalt im Muskelpreßsaft vorhanden, so daß dieses Verfahren für die Bestimmung des Keimgehaltes in diesem Substrat geeignet erscheint. Nur dadurch, daß der Keimgehalt im Preßsaft nicht dem Keimgehalt in der Muskulatur entspricht, erscheint das Verfahren für die hier angeschnittene Fragestellung nicht geeignet.

Der Prozentsatz der Proben, in denen Hemmstoffe in den Nieren nachgewiesen wurden, stimmt mit den Angaben in der Literatur überein. Auch hinsichtlich der Verteilung der positiv ausgefallenen Hemmstofftests auf die einzelnen Tierarten ließen sich keine Unterschiede feststellen.

Daß sich in einzelnen Muskelproben trotz positiven Hemmstofftestes noch vermehrungsfähige Keime in der BU nachweisen ließen, ist vermutlich auf die bei diesen Proben (Nr. 48, 51, 29) vorliegende längere Transportdauer bei höheren Außentemperaturen (August 1972) zurückzuführen, so daß die durch Antibiotika bedingte Hemmwirkung nicht entsprechend in Erscheinung trat. Zu ähnlichen Ergebnissen kam BRANDES (1969) in seinen Untersuchungen. Zusätzlich mag die trotz Anwesenheit von Antibiotika stattgefundene Keimvermehrung durch die inzwischen erfolgte Vermehrung unempfindlicher Mikroorganismen bedingt gewesen sein; denn aufgrund der unterschiedlichen Wirkungsspektren der einzelnen Antibiotika werden nicht alle Keime abgetötet oder im Wachstum gehindert. Dadurch kommt es unter den oben erwähnten Bedingungen zu einem ungehinderten Wachstum resistenter Keime, die zwar nicht unbedingt menschen- oder tierpathogen sein müs-

sen, jedoch zumindest zu einem vorzeitigen Verderb des Fleisches bzw. einer Verkürzung der Haltbarkeitsdauer führen können.

Im Sommer kommt es allgemein zu starken Keimvermehrungen im Probenmaterial. SEIDEL und KIND (1965) sind der Meinung, daß nach 12-stündigem ungekühltem Probentransport die bakteriologischen Befunde zweifelhaft und nach 20-stündigem Transport irreal sind. Diese Erfahrungen fanden auch ihre Bestätigung bei den hier durchgeführten Untersuchungen. Aus den während der warmen Jahreszeit (Sommer 1972)geprüften Proben resultierten in der Hauptsache die als "stark keimhaltig" ermittelten Ergebnisse. Die Forderungen nach einem gekühlten Probentransport erscheinen also vollauf berechtigt. Entsprechend den amerikanischen Anforderungen dürfte auch bei uns die Kerntemperatur im Fleisch + 4°C nicht überschreiten und sollte nach Möglichkeit sogar um ± 0°C liegen.

Anhand von Temperaturmessungen in den mit Styropor(R) isolierten Behältern wurden daher die Bedingungen für einen gekühlten Transport geprüft. Aus den in Tabelle 3 aufgeführten Ergebnissen dieser Messungen geht hervor, daß es bis zu einer Außentemperatur bis zu + 10°C möglich ist, Fleisch länger als 24 Stunden in Styropor(R)-isolierten Versandbehältern bei Kühltemperatur zu halten. Bis zu dieser Außentemperatur von + 10°C findet, wie Abbildung 2 bzw. Tabelle 4 wiedergeben, bei allen überprüften Gewichtsrelationen kein Temperaturanstieg im Fleischzentrum statt. Bei höheren Umgebungstemperaturen dagegen ist bereits mit einem Temperaturanstieg zu rechnen. Die Durchschnittstemperaturen im Sommer liegen etwa bei + 25°C, und gerade in diesem Temperatur-

bereich ist eine ausreichende Kühlung des Probenmaterials zu fordern. Die erste Bedingung hierfür wäre eine Vorkühlung der Proben bei niedrigen Temperaturen, nach Möglichkeit bei - 1 bis + 0°C. Die Gewichtsrelationen zwischen Kühlelementen und Fleisch müßten sich dann sowohl nach der Dauer des Transports als auch nach der Außentemperatur richten. Bei der Außentemperatur von + 25°C und einem Gewichtsverhältnis von Fleisch : Kühlelement = 1 : 2 ist innerhalb von sechs Stunden mit einem Anstieg der Kerntemperatur um etwa 1°C zu rechnen - die empfohlene Vorkühlung der Proben vorausgesetzt. Dauert der Transport voraussichtlich länger als fünf bis sechs, z. B. 12 Stunden, so müßten Fleisch und Kühlelemente in einem anderen Gewichtsverhältnis zueinander eingepackt werden, etwa im Verhältnis 1 : 3. Sollte die Transportdauer über eine Zeit von 12 Stunden hinausgehen, so müßte sich das Packungsverhältnis stark zuungunsten des Gewichts des Probenmaterials verschieben. Für 30 Stunden wäre theoretisch mindestens ein Verhältnis von 1 : 5 erforderlich. Diese Schätzung müßte jedoch noch durch entsprechende Untersuchungen bestätigt werden.

Daß mit steigenden Temperaturen und längerem Transport der Fleischproben auch das Gewicht der Kühlelemente zunehmen muß und damit der im Karton verfügbare Raum zum größten Teil von den erforderlichen Kühlelementen beansprucht wird, ist bei der Größe der herzustellenden Behälter mit in Betracht zu ziehen. Bei entsprechender Organisation ist ein Probenversand in Styropor(R)-isolierten Behältern möglich. Da sowohl Styropor(R) als auch die Kühlelemente zu niedrigen Preisen im Handel erhältlich sind, dürfte diese Art des Probenversands keine große finanzielle Belastung darstellen.

E. Schlußfolgerungen

a) Zur Keimgehaltsbestimmung

Das Ösenausstrichverfahren ist an sich geeignet, semiquantitativ Aufschluß über den Keimgehalt im Muskelpreßsaft zu geben.
Aus den quantitativen kulturellen Untersuchungen von Preßsaft und Homogenisat auf unspezifischen Keimgehalt im Muskelfleisch ergibt sich aber, daß beide Ausgangsmaterialien doch unterschiedliche Ergebnisse liefern. Preßsaft als Ausgangsmaterial für eine semiquantitative Keimzahlbestimmung erscheint nicht geeignet, weil zur Gewinnung desselben je nach Beschaffenheit der Muskulatur unterschiedliche Mengen herangezogen werden müssen.
Aus dem genormten Ösenausstrichverfahren mit Muskelpreßsaft ist daher nicht mit größerer Sicherheit grob quantitativ auf eine vorhandene Keimzahl im Muskelfleisch zu schließen, als es bei dem bisher üblichen Ausstrichverfahren mit Muskelstückchen (gemäß Anlage 1 der AB.A zum FlG) möglich ist.
Diese Methode der Untersuchung der Muskelproben auf unspezifischen Keimgehalt im Rahmen der BU bringt demnach keine Verbesserung im Vergleich zum direkten Muskelausstrichverfahren.

b) Zum Probenversand

Für einen verbesserten Probenversand geben die in den Messungen ermittelten Werte Anhaltspunkte für die Beschickung von Styropor$^{(R)}$-isolierten Behältern. Das Gewichtsverhältnis zwischen Fleisch und eingelegten Kühlelementen muß sich nach Umgebungs-

temperatur und Dauer des Probentransports richten. Bis etwa + 10°C Umgebungstemperatur und bei Anfangstemperaturen unter + 2°C im Fleischzentrum kann das Fleischgewicht bis zum doppelten des Gewichts an Kühlelementen betragen. Ab + 15°C Außentemperatur empfiehlt sich eine im Vergleich zur Probenmenge zumindest gleich hohe oder höhere Gewichtsmenge an Kühlelementen. Dies gilt insbesondere für Transporte bis zu 30 Std. Dauer. Bei sommerlichen Temperaturen um 25°C erscheint selbst eine Relation von Fl. : KE = 1 : 2 nicht mehr als ausreichend. In solchen Fällen müßte das Verhältnis noch erhöht werden. Eine Vorkühlung der Proben auf - 1 bis 0°C ist dabei nach Möglichkeit anzustreben. Die genauen Bedingungen müssen noch durch weitere Untersuchungen abgeklärt werden.
Grundsätzlich erscheint bei entsprechender Organisation ein Versand von BU-Proben unter Kühlung möglich. Durch die Styropor(R)-Isolierung werden die Ausmaße der Versandbehälter zwar geringgradig vergrößert, das Gesamtgewicht wird jedoch in Anbetracht des geringeren spezifischen Gewichts - 1 ccm Styropor wiegt weniger als 500 mg - dieses Schaumstoff-Materials nur unwesentlich erhöht. Allerdings ist eine - je nach Dauer und Jahreszeit erforderliche - zusätzliche Gewichtsbelastung durch Verwendung der Kühlelemente mit einzukalkulieren.

F. Zusammenfassung

Um eine neue Methode zur semiquantitativen Erfassung des unspezifischen Keimgehaltes in Muskelproben zu finden, die im Rahmen einer BU durchführbar ist, wurden insgesamt 75 Proben

wie folgt untersucht:

1. Semiquantitative Keimzahlbestimmungen
   a) nach dem in der Anlage 1 der AB.A zum FLG bisher vorgeschriebenen Muskelausstrichverfahren,
   b) mittels einer speziellen Ösenausstrichtechnik, ausgehend von dem nach einem besonders entwickelten Verfahren gewonnenen Muskelpreßsaft.

2. Bestimmung des quantitativen Keimgehaltes
   a) im homogenisierten Muskelfleisch sowie
   b) im Muskelpreßsaft
   mittels Verdünnungsmethodik und Oberflächenkultur-(Spatel-) Verfahren

Die quantitative Bestimmung der Keimzahl aus Muskelpreßsaft erwies sich als möglich. Die Keimgehalte von 1 ml Preßsaft mit 1 g Muskulatur wurden miteinander in Beziehung gesetzt. Hierbei lagen in 59 % der untersuchten 75 Proben die Keimzahlen pro ml Fleischpreßsaft höher als die durch Homogenisieren pro Gramm Fleisch ermittelten Werte. Zu 37 % lagen die Werte innerhalb der gleichen Zehnerpotenz, in 4 % der Fälle waren die Keimzahlen im Fleischpreßsaft niedriger als im Homogenisat. Die stärksten Abweichungen fanden sich bis zum Bereich von 10^5 Keimen/g Muskulatur. Hier lagen die Werte im Muskelpreßsaft z.T. bis zu 4 Zehnerpotenzen höher. Ab 10^6 Keimen/g Muskulatur lagen die Keimzahlen etwa zur Hälfte innerhalb der gleichen Zehnerpotenz, zur anderen Hälfte nur um maximal 1 Zehnerpotenz höher.

Aus einem Vergleich der Ergebnisse von Homogenisat und kombiniertem Muskelpreßsaft-Ösenausstrichverfahren geht hervor, daß bei Keimzahlen von 10^3 und 10^4/g Muskulatur keine Korrelation gegeben war. Ab 10^5 Keimen/g Muskulatur waren alle Ösenausstriche stark bewachsen und ließen keine differenzierten Rückschlüsse auf den Keimgehalt im Muskelfleisch zu. Aus den durchgeführten pH-Messungen ergaben sich keine die Fragestellung der Arbeit betreffenden Rückschlüsse.

Bei der Durchführung des Hemmstofftests ergab sich ein Prozentsatz hemmstoffpositiver Proben von 10,6 %, der innerhalb der Grenzen lag, die bisher in der Literatur beschrieben wurden. In einer Reihe von Proben lag trotz Hemmstoffgehaltes ein beträchtlicher Keimgehalt vor.

Die Untersuchungen zur Verbesserung der Modalitäten des Probentransports wurden mit Styropor$^{(R)}$-isolierten Behältern durchgeführt, die mit Fleisch und Kühlelementen in unterschiedlichen Gewichtsrelationen beschickt wurden. Dabei wurden folgende Modifikationen geprüft:

1. Fl. : K.-E. = 1 : 2
2. Fl. : K.-E. = 1 : 1
3. Fl. : K.-E. = 2 : 1

Die so gefüllten Behälter wurden bis zu 30 Stunden lang einer gegebenen Außentemperatur von $\pm$ 0, + 5, + 10, + 15, + 20, + 25 bzw. + 30°C ausgesetzt. Die Temperaturen im Fleischzentrum und an der Fleischoberfläche wurden in Abständen von 3, 24 und 30 Stunden gemessen.

Aus den Messungen ergab sich, daß bis zu einer Umgebungstem-

peratur von + 10°C innerhalb von 30 Stunden in jedem Fall ein Temperaturabfall im Fleischzentrum stattfand. Ab + 15°C Umgebungstemperatur kam es in der gleichen Zeit, selbst bei einem Verhältnis von Fl : KE = 1 : 2, zu einem Temperaturanstieg.

Damit keine bedenkliche Erwärmung des Probenmaterials während des Transports erfolgt, sollten Fleisch und Kühlelemente in Abhängigkeit von der Außentemperatur und von der Transportdauer jeweils in einem bestimmten Verhältnis zueinander stehen. So war z.B. die Gewichtsrelation Fl : KE = 1 : 2 für eine Transportdauer von 30 Stunden bis zu einer Außentemperatur von + 20°C noch ausreichend, bei einer Außentemperatur von + 30°C hingegen nur für maximal drei Stunden. Bei sommerlichen Temperaturen von + 25°C erscheint nach den vorliegenden Ergebnissen selbst die Relation von Fl : KE = 1 : 2 nicht ausreichend für eine Kühlung von 30 Std. Bei diesen Gegebenheiten müßte das Verhältnis erhöht oder die Transportzeit verkürzt werden. Genauere Bedingungen müssen noch durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Eine grundsätzliche Vorkühlung der Proben auf - 1 bis 0°C ist in jedem Fall anzustreben.

Literaturverzeichnis

1. ALTHOFF, W. — Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit von frischem Fleisch bei ± 0°C im Kühlhaus. Vet. med. Diss., Hannover 1936

2. BARRAUD, C., REUTER, G., KITCHELL, A.G., LABOTS, H., SIMONSEN, B. — Standardisierung der aeroben Gesamtkeimzahlbestimmung im Fleisch und Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft 47, 1313 (1967)

3. BARTELS, H. — Hemmstoffe auch bei Normalschlachtungen? Schlacht-Viehhof-Ztg. 70, 309 (1970)

4. BARTELS, H., GERIGK, K., FLEMMING, R. — Vergleichende organoleptische und bakteriologische Untersuchungen an frischem und tiefgefrorenem Hackfleisch. Fleischwirtschaft 16, 968 (1964)

5. BONFERT, W., BERRANG, K. — Hemmstoffnachweis im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung. Arch. Lebensmittelhyg. 20, 61 (1969)

6. BRANDES, H. — Zur Bewertung des unspezifischen Keimgehaltes einer bakteriologischen Fleischuntersuchung. Arch. Lebensmittelhyg. 20, 9 (1969)

7. BUGGE, S., KIESSIG, W. — Beitrag zur Klärung der Frage des Keimgehaltes des Fleisches gesunder Tiere. Zschr. Fleisch- und Milchhyg. 31, 212 (1921)

8. CLARENBURG, A., KAMPELMACHER, E.H. — Die Bedeutung von Antibiotika für die bakteriologische Fleischbeschau mit besonderer Berücksichtigung der Milzbrand- und Salmonellen-Diagnostik. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 203 (1957)

9. CORETTI, K. — Über die Brauchbarkeit der Membranfiltermethode zur Keimzahlbestimmung bei Gewürzen. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 70, 454 (1957)

10. CORETTI, K. — Ein Beitrag zur Technik der bakteriologischen Untersuchung von Fleischwaren und deren Zutaten. Fleischwirtschaft 9, 36 (1957)

11. CSABA, K.
Über die Fehlermöglichkeiten der quantitativen Untersuchungsverfahren in der Lebensmittelmikrobiologie.
Arch. Lebensmittelhyg. 10, 273 (1959)

12. DEMINA, A.A., BALANDRINA, G.A., MITSCHUKOWA, L.A.
Mikrobiologische Charakteristik des gekühlten Fleisches während des Transports mit Kühlwagen und bei der Lagerung.
Kälte 21, 212 (1968)

13. DIETZE, S.
Kammerzählverfahren und modifizierte Breed-Zählung zur Bestimmung des Gesamtkeimgehaltes in Rohwurst.
Vet. med. Diss., Leipzig, 1964

14. ELLIOT, R.P., MICHENER, H.D.
Growth of food poisoning and food spoilage microorganisms at refrigeration temperatures.
Annes 1962-1 au Bulletin de L'institut International du froid 455, 1962
Ref. Fleischwirtschaft 15, 953 (1963)

15. ELMOSSALAMI, E.
Nimmt der Oberflächenkeimgehalt von Schlachtrindern im Kühlraum zu?
Vet. med. Diss., Berlin, 1957

16. FLEISCHMANN, O.
Zerkleinerung von Fleisch und Fleischwaren für analytische Zwecke.
Fleischwirtschaft 9, 342 (1957)

17. FORSCHNER, E.
Hemmstoffe in Organen von Schlachttieren.
Arch. Lebensmittelhyg. 13, 242 (1962)

18. GARTSIDE, R.N.
The detection of antibiotics in canned meats.
Vortrag, Food Group of the Society of Chemical Industry, London, 23.3.1960
Zit. nach Roth, L., Vet. med. Diss., Hannover, 1971

19. GISSKE, W., WENZEL, S., PICHNARCIK, J., SCHAPER, J., ENNEN, E.
Allgemeiner Hemmstoffnachweis bei normal geschlachteten, tauglich beurteilten Kälbern, Schweinen und Rindern.
Arch. Lebensmittelhyg. 21, 25 (1970)

20. HAINES, R.B. SMITH, E.C.
The storage of meat in small refrigerators
Food Investigation, Special Report Nr. 43 1933

21. HALLECK, F.E., BALL, C.O., STIER, E.F.
Factors affecting quality of prepacked meat. IV. Microbiological studies. B. Effect of package characteristics and of atmospheric pressure in package upon bacterial flora of meat. Food Technol. 12, 301 (1958)

22. HALLECK, F.E., BALL, C.O. STIER, E.F.
Factors affecting quality of prepacked meat. IV. Microbiological studies. C. Effects of initial bacteriacount, kind of meat, storage time, storage temperature, antioxidants, and antibiotics on the rate of bacterial growth in packaged meat. Food Technol. 12, 654 (1958)

23. HERRMANN, K.
Über tiefgefrorenes Gemüse und Obst. Ernährungsumschau 11 (1970)

24. HESS, E.
Die Bedeutung der Fleischhygiene. alimenta, Sonderausgabe "Mikrobiologie" 9, 1 - 4 (1970)

25. HESS, E.
Entwicklung der tierärztlichen Lebensmittelhygiene. Schweizer Arch. Tierheilk. 113, 293 (1971)

26. HESS, E., MARTHALER, A.
Keimzählungen an abgepacktem Frischfleisch. Fleischwirtschaft 14, 497 (1962)

27. INAL, T.
Vergleichende Untersuchungen über die Selektivmedien zum qualitativen und quantitativen Nachweis von Bac. cereus in Lebensmitteln. Fleischwirtschaft 51, 1629 (1971)

28. INGRAM, M., DIANTY, R.H.
Changes caused by microbes in spoilage of meats. J. appl. Bact. 34, 21 (1971)

29. JEPSEN, A., PEDERSEN, H.
The control of biological residues, especially antibiotic in food of animal origin. 4. Symp. Weltvereinigung Tierärztl. Lebensmittelhygieniker (W.A.V.F.H.) 25. - 30.7.1965, Lincoln/Nebraska

30. KALICH, J., MERKENSCHLAGER, M. — Zur Frage des Salmonella-Nachweises in Organen nach Antibiotika-Therapie bzw. -Beifütterung. Tierärztl. Umschau 13, 324 (1958)

31. KAMPELMACHER, E.H. — Über die zukünftige Entwicklung in der Fleischbeschau. V. Symp. World Association of Veterinary Food Hygienists, Opatija, Yugoslavia, Proceedings, 1969

32. KAMPELMACHER, E.H., GUINEE, P.A.M., van NOORLE JANSEN, L.M. — Een eenvoudige onderzoekmethode ter vastelling van antibiotica bij slachtdieren, die tijdens het leven therapeutisch met antibiotica werden behandeld. Tijdschr. Diergeneeskd. 87, 16 (1962)

33. KARAN-DJURDIJC, S., TADIĆ, T. ., TADIĆ, R. — Untersuchungen über den Einfluß niedriger Temperaturen auf ausgewählte Mikroorganismen in verschiedenen Substraten. VIII. Europ. Kongreß der Fleischforschungsinstitute 20. - 27.8.1962, Moskau Ref.Fleischwirtschaft 14, 1172 (1962)

34. KELCH, F. — Die bakteriologische Untersuchung von Fleisch- und Fischkonserven (Voll- und Halbkonserven). Fleischwirtschaft 12, 354 (1960)

35. KELCH, F., HADLOK, R. — Zur Methodik der bakteriologischen Untersuchung von Fleischkonserven ohne Bombageerscheinung. Fleischwirtschaft 12, 915 (1960)

36. KIND, H. — Hemmstoffe unter besonderer Berücksichtigung der bakteriologischen Fleischuntersuchung. Mhfte Vet.-Med. 21, 903 (1966)

37. KLEIN, D. — Der Hemmstoff- und Hormonnachweis bei Schlachttieren. Tierärztl. Umschau 27, 24 (1972)

38. KLEIN, H. , DITGENS, K. — Zur Beurteilung des unspezifischen Keimgehaltes der Muskelproben bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung. Tierärztl. Umschau 21, 505 (1966)

39. KLIMA, H.
Zur Frage des Hemmstoffnachweises anläßlich der bakteriologischen Fleischuntersuchung.
Fleischwirtschaft 46, 1347 (1966)

40. KÖSER, A., v. SPROCKHOFF, H.
Der Einfluß der Antibiotika auf den Nachweis von Seuchenerregern durch die bakteriologische Untersuchung.
Mhfte. Tierheilkd. 12, 323 (1960)

41. KOTTER, L.
Einschaltung eines biologischen Hemmstofftestes bei der Bakteriologischen Fleischuntersuchung.
Ref. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 73, 78 (1960)

42. KOTTER, L., TERPLAN, G., SCHULZ, H.
Biologischer Nachweis von Hemmstoffen in Lebensmitteln tierischer Herkunft.
Arch. Lebensmittelhyg. 10, 145 (1959)

43. KRAUS, H.
Über die Bakterienflora in fleischverarbeitenden Betrieben und ihre Bedeutung für die Entstehung von Fehlfabrikaten, besonders in der warmen Jahreszeit.
Arch. Lebensmittelhyg. 11, 157 (1960)

44. KUNDRAT, W.
45-Minuten-Schnellmethode zum mikrobiologischen Nachweis von Hemmstoffen in tierischen Produkten.
Fleischwirtschaft 52, 485 (1972)

45. LAGONI, H.
Der "individuelle Fehler" bei der Koch'schen Keimzahlbestimmung und eine einfache Methode zu seiner Ermittlung.
Milchwissenschaft 9, 10 (1954)

46. LANGPAP, A.
Über den Keimgehalt von Proben MKS-kranker Schweine bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung.
Schlacht-Viehhof-Ztg. 62, 83 (1962)

47. LEISTNER, L.
Ein neues Verfahren zur Ermittlung des oberflächlichen Keimgehaltes bei Fleisch und Fleischwaren.
Arch. Lebensmittelhyg. 7, 7 (1956)

48. LERCHE, M., BARTELS, H., KELCH, F. in: A. Schröter / M. Hellich: Das Fleischbeschaugesetz. II. Teil, Verl. P. Parey, Berlin, Hamburg, 1960

49. LERCHE, M., GOERTTLER, V., RIEVEL, H. Lehrbuch der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. 3. Aufl., Verl. M. und H. Schaper, Hannover, 1957

50. LERKE, P., ADAMS, R., FABER, L. Bacteriology of spoilage of fish muscle. Appl. Microbiol. 11, 458 (1963)

51. LEVETZOW, R. Untersuchungen auf Hemmstoffe im Rahmen der Bakteriologischen Fleischuntersuchung (BU). Bundesgesundheitsblatt 14, 211 (1971)

52. LOCHMANN, E.-H. Kann das Ergebnis der bakteriologischen Fleischuntersuchung durch zur Zeit des Todes im Organismus befindliches Penicillin beeinflußt werden? Arch. Lebensmittelhyg. 6, 251 (1955

53. LOESER Über die Haltbarkeit von Fleisch in gewerblichen Kühlräumen. Schlacht-Viehhof-Ztg. 35, 1 (1935)

54. LORENZEN, P. Anwendung und Auswertung des Antibiotikatestes in der bakteriologischen Fleischuntersuchung. Arch. Lebensmittelhyg. 18, 30 (1967)

55. LORENZEN, P., GEMMER, H. Bakteriologische Untersuchungsergebnisse von Fleisch- und Wurstkonserven und deren Auswertung für die Beurteilung. Arch. Lebensmittelhyg. 12, 97 (1961)

56. LOTFI, A.Y. Fähigkeit und Grad der Penetration von Oberflächenkeimen in unversehrtes Fleisch und deren Bedeutung für die Volksgesundheit und Aufrechterhaltung der Fleischqualität. Schlacht-Viehhof-Ztg. 71, 92 (1971)

57. LUDWIG, E. — Über das Vorkommen von psychrotoleranten Bakterien, insbesondere von Pseudomonasarten, auf der Oberfläche von Fleisch frischgeschlachteter Tiere. Vet. med. Diss., Hannover, 1964

58. MEYN, A., KALICH, J., MERKENSCHLAGER, M. — Der Einfluß der Antibiotika-Beifütterung und der Antibiotika-Therapie auf das Ergebnis der bakteriologischen Fleischuntersuchung. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 73, 81 (1960)

59. MITCHELL, N.J. — A simplified method for quantitative microbiological examination of deep frozen seafoods. J. appl. Bact. 33, 523 (1970)

60. MOSSEL, D.A.A. — Aufgaben und Durchführung der modernen hygienisch-bakteriologischen Lebensmittelüberwachung. Wien. tierärztl. Mschr. 43, 321 u. 596 (1956)

61. MOSSEL, D.A.A., ZWART, H. — Die qualitative bakterioskopische Bewertung von Gemüse- und Fleischkonserven. Arch. Lebensmittelhyg. 10, 229 (1959)

62. NAUMANN, G., WERBS, Ch. — Der Einsatz von agarbeschichteten Objektträgern zur bakteriologischen Urindiagnostik. Dtsch. Gesundheitswesen 25, 2197 (1970)

63. NEAL, C.E., CALBERT, H.E. — The use of 2,3,5-Triphenyltetrazolium-chloride as a test for antibiotic substances in milk. Ref. Food Sci. Abstr. 27, 2721 (1955)

64. v. OSTERTAG, R., SCHÖNBERG, F. — Lehrbuch der Schlachttier- und Fleischuntersuchung. Verl. Enke, 2. Aufl., Stuttgart, 1955

65. PÄHR, H. — Gedanken zum Status der Bakteriologischen Fleischuntersuchung in einem neuen Fleischhygienegesetz. Schlacht- Viehhof-Ztg. 69, 59 (1969)

66. PSOTA, A. — Endbeurteilung nach bakteriologischer Untersuchung Wien. tierärztl. Mschr., 52, 1072 (1965)

67. PANZER, W.
Die Zählung der Bakterien und Hefen in Teig und Brot mit der Zählkammer nach Thoma-Zeiß.
Zschr. Lebensmittelunters. u. -Forschg. 91, 93 (1950)

68. REUTER, G.
Vorkommen und Bedeutung von psychotrophen Mikroorganismen im Fleisch.
Arch. Lebensmittelhyg. 23, 272 (1972)

69. REUTER, G.
Mikrobiologische Analyse von Lebensmitteln mit selektiven Medien.
Arch. Lebensmittelhyg. 21, 30 (1970)

70. RIECHERT, P.
Wachstum von Bact. enteritidis Breslau auf künstlich infiziertem Fleisch bei Kühlschranktemperatur.
Vet. med. Diss., Berlin, 1940

71. RIEVEL, H.
Betriebskontrolle in Fleischwarenfabriken.
Fleischwirtschaft 22, 63 (1942)

72. SAWATZKI, K.
Über die Häufigkeit des Hemmstoffnachweises anläßlich der bakteriologischen Fleischuntersuchung in Rheinland-Pfalz.
Tierärztl. Umschau 26, 603 (1971)

73. SCHMID, W.
Einfluß von Temperatur und Feuchtigkeit auf das Bakterienwachstum auf gekühltem Fleisch.
Beiheft Zschr. f. d. ges. Kälteindustrie, 1931

74. SCHMIDT-LORENZ, W.
Über den Einfluß von Verdünnungslösungen auf das Ergebnis von Bakterienzählungen bei bestrahltem und gefrorenem Fisch.
Arch. Lebensmittelhyg. 11, 60 (1960)

75. SCHÖNBERG, F.
Die Zersetzung tierischer Lebensmittel durch psychrophile Keime und deren Unschädlichmachung durch Kälte.
Zschr. f. d. ges. Kälteindustrie, 155 (1939)

76. SCHÖNBERG, F.
Über die Bedeutung der Behandlung der Schlachtschweine (Brühen, Entborsten, Oberflächenreinigung)kurz nach der Schlachtung für den Baktierenbefall des Fleisches und der Haut unter besonderer Berücksichtigung der Erzeugung möglichst keimarmer Schinken für den Export.
Fleischwirtschaft 5, 31 (1953a)

77. SCHÖNBERG, F.
Sommerliche Temperaturen und Temperaturschwankungen in ihrer Bedeutung für das Auftreten von Fehlfabrikaten bei Rohwürsten, Schinken und Fleischkonserven, insbesondere bei Dosenwürstchen. Fleischwirtschaft 5, 205 (1953b)

78. SCHÖNHERR, W.
Leitfaden der Milchuntersuchung. 16. Aufl., Verl. S. Hirzel, Leipzig, 1956

79. v. SCHOTHORST, M.
Nachweis und Identifizierung einiger Antibiotika bei Schlachttieren. Fleischwirtschaft 50, 1085 (1970)

80. SEIDEL, G., KIND, H.
Zu Fragen des allgemeinen Keimgehaltes bei der BU. Mhfte Vet.-Med. 20, 108 (1965)

81. SIEGMANN, O.
Bakteriologische Untersuchungsergebnisse bei Schlachthühnern. Arch. Lebensmittelhyg. 12, 8 (1961)

82. SINELL, H.J., REUTER, G., UNTERMANN, F.
Zur Standardisierung der aeroben Gesamtkeimzahlbestimmung in Fleisch und Fleischerzeugnissen. Arch. Lebensmittelhyg. 16, 217 - 224 (1965)

83. SINELL, H.-J.
Neuzeitliche Kühlungs- und Transportprobleme bei Schweinefleisch. Vortragstagung der Bundesanstalt f. Fleischforschung, Kulmbach, 1963 Ref. Fleischwirtschaft 15, 1014 (1963)

84. SOMMER, K.
Untersuchungen über den Oberflächenkeimgehalt ausgeschlachteter Schweine an sog. Hauptschlachttagen und bei sorgfältiger Schlachtvorbereitung. Vet. med. Diss., Hannover, 1958

85. SOVADINA, M.
Beitrag zur Bakteriologie des vorverpackten Frischfleisches. Ref. Fleischwirtschaft 14, 310 (1962)

86. v. SPROCKHOFF, H.
Zum Nachweis von Antibiotica in der Niere von Schlachttieren bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung mittels Triphenyltetrazoliumchlorid. Dtsch. tierärztl. Wschr. 67, 620 (1960)

87. TAKACS, J. — Über die Bestimmung von Grenzwerten im Keimgehalt von Würsten zur Feststellung der Grenze der Haltbarkeit. Mhfte Vet.-Med. 16, 704 (1961)

88. THEILE, H. — Untersuchungen über die Haft- und Überlebensfähigkeit, die Vermehrungsfähigkeit und die Bewegungsaktivität von Salmonellen im Fleisch von Schlachttieren bei Kühlhaustemperatur. Vet. med. Diss., FU Berlin, 1970

89. THEIREICH, G. — Über die Kühlung von Fleisch frischgeschlachteter Tiere. Vet. med. Diss., München 1959

90. THORNTON, H. — Text Book of Meat Inspection. 5th ed., Baillière, Tindall and Cassell, London, 1968

91. WALZ, E. — Über den Keimgehalt der Haut von Schlachtschweinen kurz nach der Schlachtung. Lebensmitteltierarzt 4, 115 (1953)

92. WOLFFRAM, N. — Vergleichende Untersuchungen über den Keimgehalt der Fleischoberfläche abgespritzter und abgewischter Rinderhälften. Fleischwirtschaft 7, 255 (1955)

93. ZIELINSKI, H. — Zur Bedeutung der regelmäßigen Untersuchung der sog. Fleischlymphknoten bei Rind undSchwein unter besonderer Berücksichtigung der Not- und Krankschlachtungen. Vet. med. Diss., Hannover, 1966

94. ZIMMER, K. — Zur Frage der Untersuchung und Beurteilung von postmortal mit Fleischvergiftern infizierten Tierkörpern. Lebensmitteltierarzt 4, 221 (1953)

95. ZLÁMALOVÁ, J. — Vorkommen von Proteuskeimen im Fleisch während der technologischen Verarbeitung. 7. Internat. Tagung der Europäischen Fleischforscher Ref. Fleischwirtschaft 14, 310 (1962)

Herrn Prof. Dr. R. Levetzow vom Robert von Ostertag-Institut des Bundesgesundheitsamtes danke ich für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit und für die jederzeit gern gewährte Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der Untersuchungen.
Herrn Prof. Dr. G. Reuter vom Institut für Lebensmittelhygiene, Fleischhygiene und -technologie der Freien Universität Berlin danke ich für die Übernahme und Durchsicht der Arbeit.
Dem Landesveterinäruntersuchungsamt von Berlin, unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Hellmann, möchte ich für die freundliche Überlassung von Probenmaterial danken. Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Harms vom Landesveterinäruntersuchungsamt Hannover, bei dem ich einen Teil meiner Untersuchungen durchführen durfte.

Lebenslauf

Am 12. Oktober 1944 wurde ich, Monika Etzel, geb. Kolberg, als zweite Tochter des Ingenieurs Gerhard Kolberg und seiner Ehefrau Hildegard in Friesack geboren.
Im September 1951 wurde ich in die 29. Grundschule im Bezirk Prenzlauer Berg in Berlin eingeschult.
Im Oktober 1955 zogen meine Eltern nach Berlin-Tempelhof, Ortsteil Mariendorf um. Dort besuchte ich eineinhalb Jahre die Ludwig-Heck-Grundschule, von der ich Ostern 1957 auf das Eckener-Gymnasium überwechselte. - Nach Erreichen der Hochschul-Reife im März 1965 begann ich im darauffolgenden Sommersemester 1965 an der Freien Universität Berlin das Studium der Veterinärmedizin, das ich im Juni 1970 mit dem Staatsexamen abschloß. Zwei Monate später erhielt ich die Approbation.
Im August 1970 übernahm ich am Robert von Ostertag-Institut des Bundesgesundheitsamtes die vorliegende Doktorarbeit, zu der ich die praktischen Arbeiten im Juni 1972 abschloß.
Seit Oktober 1972 bin ich bei der Firma Chemie Grünenthal GmbH, Stolberg/Rhld. beschäftigt.